

UNIVERSITÉ DE NANCY

Année 1937-1938

FACULTÉ DE PHARMACIE

III^e Série — N° 12

CARBURES CANCÉRIGÈNES CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MÉTHYLCHOLANTHRÈNE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le février 1938
à la Faculté de Pharmacie de Nancy

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

Marie-Madeleine CATTET

Pharmacien

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. P. PASTUREAU, Doyen, Président.

DOURIS,	} Juges
DONZELOT.	

1938

Imprimerie Jacques et Demontrond — Besançon

PERSONNEL ENSEIGNANT

DOYEN :

M. PASTUREAU, O. , I. , 

ASSESEUR :

M. LASSEUR, , I. , 

PROFESSEURS :

MM. DOURIS, I. , , ..... Toxicologie.
 PASTUREAU, O. , I. ,  Pharmacie chimique
 SEYOT, , , I. , , .. Histoire naturelle.
 LASSEUR, , I. , ..... Microbiologie.
 N..... Matière médicale.
 N..... Chimie organique.
 N..... Pharmacie galénique.

CHARGÉS DE COURS MAGISTRAUX :

M. MEUNIER..... Pharmacie galénique.
 M^{lle} FRANÇOIS..... Matière médicale.
 M. KAYSER..... Chimie biologique.

CHARGÉS DE COURS :

MM. VERNIER, I. ..... Zoologie.
 CORDEBARD, , I. ..... Analyse chimique.
 DONZELOT ..... Physique. — Chimie minérale.
 MARCHAL..... Hydrologie.
 RICHARD..... Chimie organique.

CHEFS DE TRAVAUX :

MM. VERNIER, I. ..... Microbiologie et Parasitologie.
 CORDEBARD, , I. ..... Chimie et Analyse chimique.
 STEIMETZ, ..... Micrographie.
 DONZELOT  (chargé de tr.) Physique.
 RICHARD (chargé de tr.).... Pharmacie.
 LASCEVE (chargé de tr.).... Chimie biologique et Toxicologie.

SECRÉTARIAT :

M. TRIBOLET, I. ..... Secrétaire.

DOYENS HONORAIRES :

MM. BRUNTZ, O. , , I. ,
 O. , , ..... Recteur de l'Université de Nancy
 SEYOT, , , I. , , ... Professeur d'Histoire naturelle.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. GRELOT, , I. , .
 BRUNTZ, O. , , I. , O. , , .

AGRÉGÉ LIBRE :

M. GIRARDET, , I. ..... Chimie et Toxicologie.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

UNIVERSITÉ DE NANCY

Année 1937-1938

FACULTÉ DE PHARMACIE

III^e Série — N° 12

CARBURES CANCÉRIGÈNES CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MÉTHYLCHOLANTHRÈNE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le février 1938
à la Faculté de Pharmacie de Nancy

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

Marie-Madeleine CATTET
Pharmacien

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. P. PASTUREAU, Doyen, Président.

DOURIS,	} Juges
DONZELOT,	

1938

Imprimerie Jacques et Demontrend — Besançon



A MES PARENTS

A MON BEAU-FRÈRE

ET

A MA SŒUR

A MON NEVEU

JACQUES

A MONSIEUR JACQUEMAIN

*Professeur à l'Ecole
de Pharmacie de Besançon*

Que tous ceux qui ont facilité ma tâche, par leur bienveillance ou leurs conseils éclairés, trouvent ici l'expression de ma très vive reconnaissance :

M. le doyen Pasturcau, qui me fait le grand honneur de présider ma thèse ;

M. le professeur Douris, et M. le professeur Donzelot, qui ont bien voulu accepter de faire partie de mon jury ;

M. le professeur Trillat, qui a mis à ma disposition son installation de rayons X et M. Fritz, assistant, qui m'a prodigué ses conseils ;

M. le professeur Joannis, qui m'a permis de travailler dans ses laboratoires et s'est personnellement intéressé à mon travail ;

M. le professeur Velluz, M. le professeur Oberling, M. le docteur Guérin, M. le docteur Dalimier, M. le professeur Colin, ainsi que M. le professeur Marceau, qui ont enrichi mon étude des résultats de leurs expérimentations physiologiques ;

M. le professeur Arcay, avec qui je poursuis la mise au point d'un spectre de fluorescence ;

Mes maîtres de la faculté de Nancy et de l'école de Besançon ;

Qu'il me soit enfin permis d'exprimer toute ma gratitude à M. le professeur Jacquemain, pour l'aimable accueil qu'il m'a réservé dans son laboratoire, et l'inlassable sollicitude qu'il n'a cessé de me prodiguer. C'est lui qui m'a inspiré le sujet de ce travail qu'il a guidé de ses précieux conseils. Qu'il veuille bien trouver ici l'hommage de ma reconnaissance.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont bien voulu me favoriser de leur aide bienveillante, j'adresse mes très vifs remerciements.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

C'est en 1775 que le cancer des ramoneurs fut décrit par le chirurgien anglais Percival Pott, montrant que cette maladie était bien un véritable cancer et n'était pas causée par la syphilis comme on l'avait cru jusque là.

Par la suite, plusieurs auteurs signalaient des cas semblables : cancers produits par le goudron, la paraffine, le brai (résidu solide de la distillation du goudron), les huiles minérales, et observés chez des ramoneurs, des tisseurs, des ouvriers manipulant ces différents produits.

En 1913, les deux biologistes japonais, Yamagiwa et Itchikawa, réussirent à produire le cancer expérimental, en irritant chaque jour la face interne des oreilles d'un lapin ou d'une souris par un badigeonnage au goudron. Cette découverte présentait un double intérêt. Elle créait une méthode de choix pour produire des tumeurs malignes et étudier leur évolution, mais aussi, en attirant l'attention sur cette curieuse propriété du goudron de houille, elle posait le problème chimique de l'identification des constituants actifs.

Tel fut le but des belles recherches entreprises en 1924 et poursuivies depuis 1930 par la brillante école de Cook et Kennaway du « Cancer Hospital » et du « Research Institute » de Londres (1).

Deux faits orientèrent ces recherches :

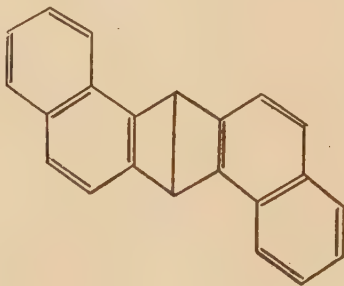
a) Seules les fractions de la distillation du goudron à point d'ébullition élevé (337 à 440°) sont cancérigènes, ce qui laissait à penser que la substance cancérigène n'était pas nécessairement préformée dans le goudron, mais apparaissait au cours de la pyrogénéation (Kennaway, 1924) (2).

b) Toutes les substances cancérigènes, goudrons, huiles minérales..., présentent un spectre de fluorescence spécifique à trois

bandes à 4000, 4180, 4400 Angströms (Mayneord, 1927 ; Hieger, 1930), ce spectre étant voisin de celui fourni par le 1-2 benzanthracène (3).

C'est alors que Cook, Kennaway, et leurs collaborateurs, ont pu isoler et obtenir par voie de synthèse, une série de produits déterminant le cancer par application cutanée ou par injection ; ce sont des hydrocarbures polycycliques aromatiques et possédant le squelette benzanthracénique (4).

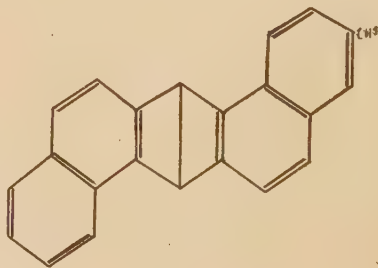
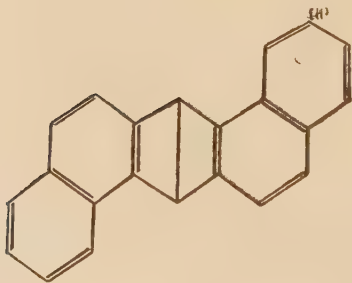
1° En 1930, Cook découvrait le premier carbure synthétique pur, le 1-2-5-6 dibenzanthracène de formule :



reconnu cancérigène à la suite des expérimentations du professeur Kennaway au laboratoire du « Cancer Hospital ». Des expériences furent faites avec ses dérivés de substitution qui se révélèrent soit inactifs, soit moins actifs. Parmi ces derniers :

le 2' méthyl 1-2-5-6 dibenzanthracène ;

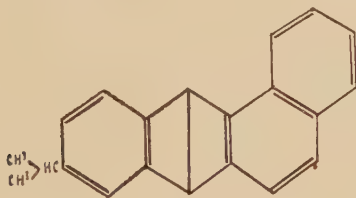
le 3' méthyl 1-2-5-6 dibenzanthracène ;



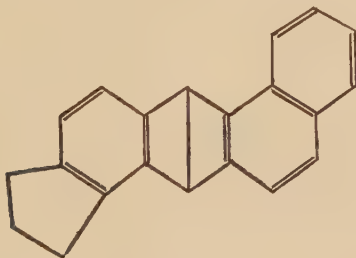
2° Le 1-2 benzanthrène, d'activité cancérogène très faible, présente un spectre de fluorescence à trois bandes, voisin de celui fourni par les substances cancérogènes naturelles ou synthétiques ; les recherches s'orientèrent dans ce sens et un grand nombre d'homologues du 1-2 benzanthrène furent préparés. A part le 6 méthyl et le 6-7 diméthyl 1-2 benzanthrène, les corps les plus actifs sont les dérivés alcoylés en position 6 ou possédant un cycle supplémentaire, fermé en positions 5 et 6.

Deux composés se révélèrent fortement actifs :

le 6 isopropyl 1-2 benzanthrène ;



le 5-6 cyclo-penteno 1-2 benzanthrène ;



les 3,7 et 10 isopropyl 1-2 benzanthrène, de même que les dérivés méthylés (3,7, 2' et 3') et diméthylés (2'-6 ; 2'-7 ; 3'-7 ; 3'-6) se sont révélés inactifs : ce qui prouve à quel point l'activité cancérogène est liée à une structure déterminée de la molécule.

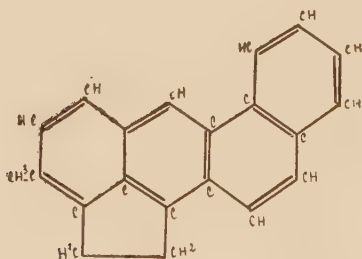
3° L'étude des spectres de fluorescence suggéra aux savants de l'école anglaise un essai d'isolement, à l'aide de solvants appropriés,

de la substance fluorescente contenue dans les poix de goudron de houille : c'est ainsi qu'en 1933, Cook, Hewett et Hieger isolèrent le 1-2 benzopyrène (5), carbure fortement cancérigène, préparé synthétiquement par la suite à partir du pyrène.



4° Poursuivant plus avant ses investigations Cook, en 1933(6), attirait l'attention sur un certain nombre de composés naturels ayant une activité biologique considérable et contenant, comme les carbures cancérigènes, ce système phénanthrénique dans leur molécule, à savoir, les stérols, les acides biliaires, l'hormone ovarienne, peut-être l'hormone mâle, la vitamine D, les poisons cardiaques et certains alcaloïdes végétaux. Déjà il entrevoyait la transformation possible de ces substances, stérols, acides biliaires, en agents cancérigènes actifs.

La découverte par Cook et Haslewood, du méthylcholanthrène,



produit de désintégration de l'acide cholique, en même temps que la consécration de ses propriétés cancérigènes par le professeur Kennaway ont confirmé pleinement ces hypothèses.

Cet hydrocarbure cancérigène sert de trait d'union entre les substances cancérigènes et les substances normales de l'organisme :

de là son importance capitale, ouvrant des horizons nouveaux aux théories de la carcinogénèse.

C'est l'étude du méthylcholanthrène que nous avons entreprise ici, nous efforçant de mettre en valeur ces deux aspects de la question : d'une part, sa filiation par l'intermédiaire de produits naturels du métabolisme animal, acides biliaires et stérols, d'autre part, ses analogies de structure et d'activité physiologique avec les carbures cancérigènes naturels ou synthétiques précédemment étudiés.

PLAN

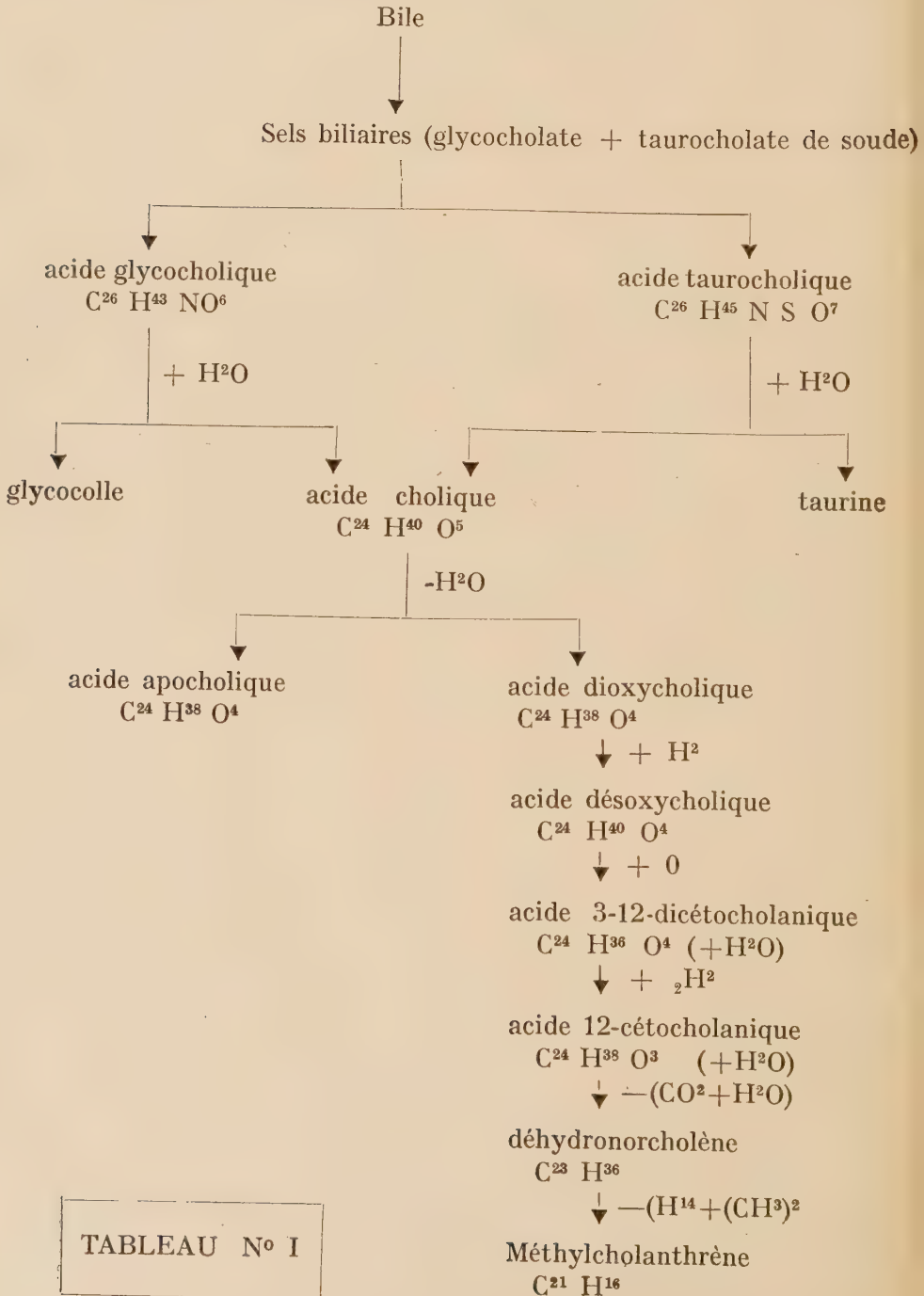
Voici quel sera le plan de notre travail :

Dans une première partie, nous étudierons la bile et les acides biliaires (acides glycocholique et taurocholique, acide cholique, acide désoxycholique), avec leurs modes de préparation, leurs propriétés physiques et chimiques.

La seconde partie traitera du méthylcholanthrène, de ses synthèses, plus spécialement de sa synthèse à partir de l'acide désoxycholique que nous avons étudiée et mise au point, de sa structure moléculaire et de ses confirmations, de ses propriétés physiques et chimiques, des résultats de ses expérimentations physiologiques, et ,en matière de conclusion, de ses analogies chimiques par l'intermédiaire des stérols et des acides biliaires, avec les hormones oestrogènes.

Nous terminerons en donnant le spectre de rayons X du produit.

**Tableau schématique de la Préparation du méthylcholanthrène
à partir de la bile**



PREMIÈRE PARTIE

BILE ET ACIDES BILIAIRES

Le méthylcholanthrène est un hydrocarbure à cinq noyaux benzéniques accolés, obtenu pour la première fois synthétiquement à partir d'un acide biliaire, l'acide désoxycholique, par toute une série de transformations que nous nous proposons d'étudier ici (voir tableau N° I ci-contre).

L'acide désoxycholique est lui-même le premier terme de réduction de l'acide cholique, produit d'hydrolyse des acides glycocholique et taurocholique, acides existant normalement dans la bile sous forme de glycocholate et taurocholate de soude.

I. — BILE

La bile est un liquide filant, amer et alcalin, de densité 1,030, de teinte jaune d'or mais verdissant rapidement à l'air ; voici à titre d'indication la composition moyenne de la bile :

Composition ‰ d'après Ch. Robin (7) :

Eau	915 à 820
Sels d'origine minérale (chlorures, phosphates) ..	6,25 à 10,73
Sels biliaires	56,50 à 106,60.
Cholestérine	1,60 à 2,66
Corps gras (lécithine, margarine)	3,20 à 31
Matières colorantes	14 à 30
Substances azotées	traces non dosées
(leucine, tyrosine, urée)	

Les sels biliaires sont les sels sodiques des acides glycocholique et taurocholique, acides résultant de la conjugaison de l'acide cholique avec le glyocolle, et la taurine provenant de la cystéine.

Les sels biliaires contenus dans la bile de chien sont en grande partie constitués par du taurocholate. Les biles de l'homme et de bœuf contiennent à la fois glycocholate et taurocholate.

Ces sels biliaires sont solubles dans l'eau, l'alcool, insolubles dans l'éther ; les solutions aqueuses des sels biliaires dissolvent les savons et les acides gras (8).

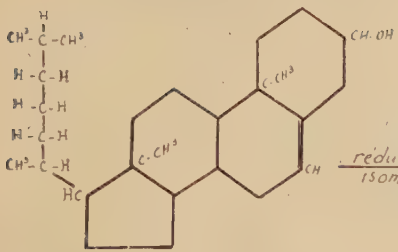
II. — ACIDES BILIAIRES

Origine des acides biliaires (9).

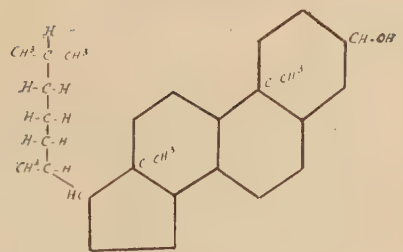
On sait aujourd'hui que les acides biliaires tirent leur origine du cholestérol. « Dès 1913, A. Grigaut avait montré que le cholestérol devait être la substance mère des acides biliaires, à la suite d'analyse du sang et de la bile chez les lithiasiques, sujets dont la bile est excessivement pauvre en sels biliaires et dans le sang desquels on observe une hypercholestérolémie : donc augmentation de cholestérol dans le sang et défaut d'acides biliaires dans la bile, tandis que chez les sujets normaux il y a formation dans le foie de sels biliaires. » A la suite de ces observations, Grigaut émit l'hypothèse que les sels biliaires se formaient dans le foie à partir du cholestérol, hypothèse basée sur ce fait que, chez les lithiasiques, il y a hypercholestérolémie avec hypocholaléchole. Les deux savants allemands Windaus et Wieland ont donné une preuve chimique aux résultats précédents : c'est à leurs travaux que nous devons aujourd'hui de savoir à peu près la filiation des acides biliaires. (Voir tableau N° II, en partie d'après A. Grigaut et Girard)

Le cholestérol dans l'intestin peut se changer par réduction et isomérisation, en un composé analogue, le coprostérol. A partir de ces deux composés, il peut se faire par deux voies différentes un même carbure, le pseudo-cholestane, dérivant du cholestérol par réduction et isomérisation, et du coprostérol par réduction. Le pseudo-cholestane par oxydation donne l'acide cholanique.

cholestérol

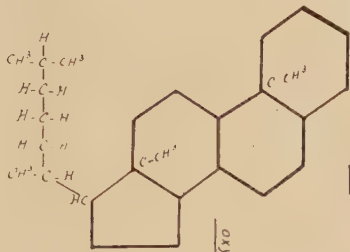


coprosterol



réduction et isomérisation

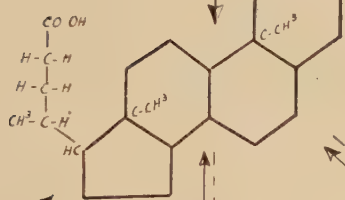
réduction et isomérisation



réduction

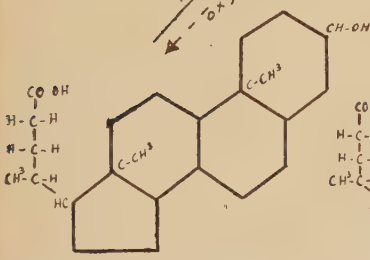
pseudo-cholestane

oxydation



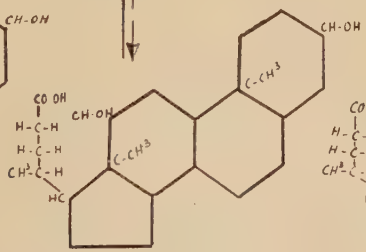
acide cholique

réduction
oxydation



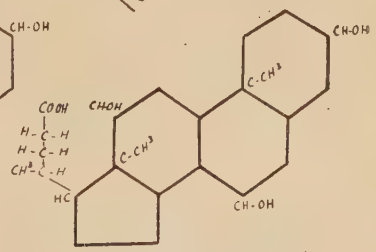
acide lithocholique

oxydation
réduction



acide désoxycholique

oxydation
réduction



acide cholique

prégnandiol

hormone mâle

folliculine

(voir Tableau N° IX)

MÉTHYLCHOLANTHRÈNE

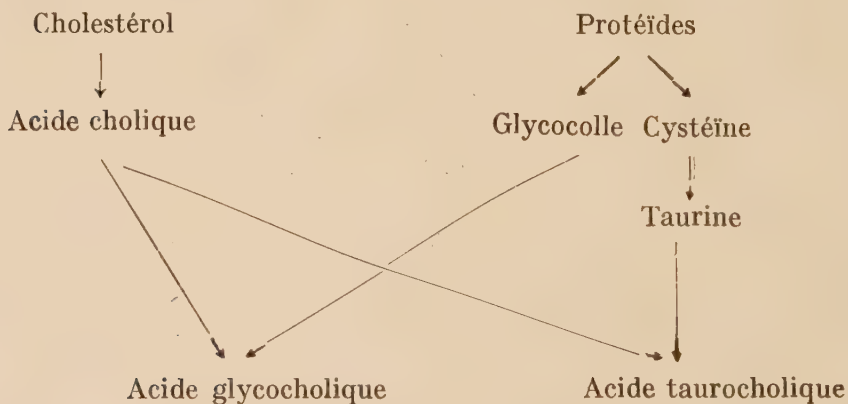
(voir Tableau N° III)

TABLEAU N° II

Cet acide cholanique n'est pas un acide biliaire, mais nous verrons dans ce qui va suivre que c'est le dernier terme de réduction de l'acide cholique ; par oxydations successives de l'acide cholanique on arrive aux acides lithocholique (1 fonction alcool secondaire), désoxycholique (2 fonctions alcool secondaire) et cholique (3 fonctions alcool secondaire).

Le cycle complet du point de vue chimique n'a pu encore être fait, mais puisque, à partir du cholestérol, on est arrivé aux mêmes dérivés de réduction, il y a presque certitude que les acides biliaires tirent leur origine du cholestérol.

Cependant, dans les différentes biles, il n'existe pas d'acide cholique libre et très peu d'acides lithocholique et désoxycholique. L'acide cholique y est le plus souvent conjugué, comme nous l'avons vu précédemment, soit à des monopectides ou acides aminés (glycocolle), soit à leurs dérivés (taurine, provenant de la cystéine). « De telle sorte que deux métabolismes s'associent pour faire les acides biliaires, celui des stérols et celui des protéïdes, suivant le schéma ci-dessous, représentant la formation des acides glycocholique et taurocholique ».



Etude de quelques acides biliaires.

Nous étudierons successivement, les acides glycocholique et taurocholique, l'acide cholique et l'acide désoxycholique, qui seuls intéressent notre synthèse.

A. — ACIDES GLYCOCHOLIQUE ET TAUROCHOLIQUE



PM = 451



PM = 515

a) Préparation (d'après Lebeau et Courtois) :

A deux cents parties de bile de bœuf on ajoute vingt parties de noir animal fin, on mélange, puis on évapore à siccité : ce traitement a pour but de se débarrasser des pigments biliaires.

Le résidu de l'évaporation est repris par de l'alcool absolu, ce qui donne un mélange de sels biliaires et de lipoides : la solution, après avoir été agitée avec du noir animal afin de la décolorer, est filtrée. On ajoute un excès d'éther : les sels biliaires s'agglomèrent, précipitent et, au bout de quelques jours, donnent un produit cristallisé en aiguilles soyeuses (Bile cristallisée de Plattner. Rendement 1,6 à 7 % de la bile traitée).

Pour séparer les deux acides glycocholique et taurocholique, on utilise leur différence de solubilité dans l'eau ; l'acide glycocholique est faiblement soluble (1/300), l'acide taurocholique est très soluble. Voici comment on opère :

On dissout la bile cristallisée dans un peu d'eau et on libère les acides par addition d'acide sulfurique de manière à provoquer un trouble persistant ; après quelques instants :

a) l'acide glycocholique précipite sous forme cristalline, on le sépare et on le purifie par dissolution dans l'alcool puis reprécipitation par l'éther ;

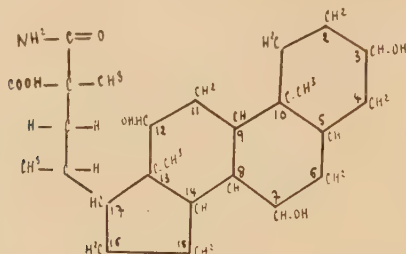
b) l'acide taurocholique reste en solution, on évapore à siccité. Le résidu est repris par l'alcool et traité par l'éther : l'acide taurocholique précipite.

b) Propriétés des acides glycocholique et taurocholique.

1) — Propriétés particulières.

Acide glycocholique $C^{26} H^{43} N O^6$

PM = 451



Se présente sous forme d'aiguilles incolores, d'aspect brillant, de saveur amère et de réaction acide.

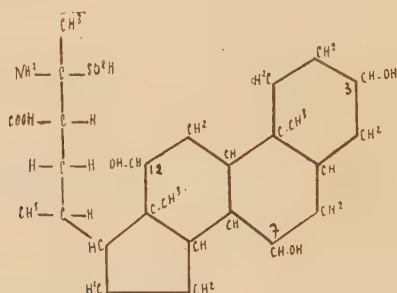
Point de fusion $F = 133^{\circ}$. Cet acide est dextrogyre.

Il est peu soluble dans l'eau froide (1/300), mais facilement soluble dans l'eau chaude, dans l'alcool ; insoluble dans l'éther.

Il précipite par addition d'acétate de plomb, mais ne donne rien avec la gélatine.

Acide taurocholique $C^{26} H^{45} N S O^7$

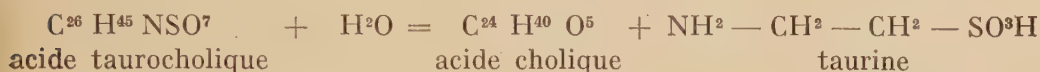
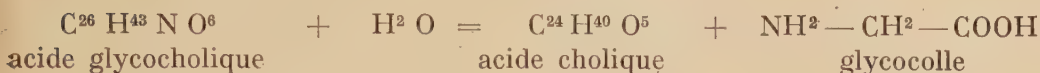
PM = 515



Se présente sous forme d'aiguilles brillantes, très hygroscopiques, de saveur amère. Sa solution précipite par addition de gélatine, par contre elle ne donne rien avec l'acétate de plomb.

2) — Propriétés générales.

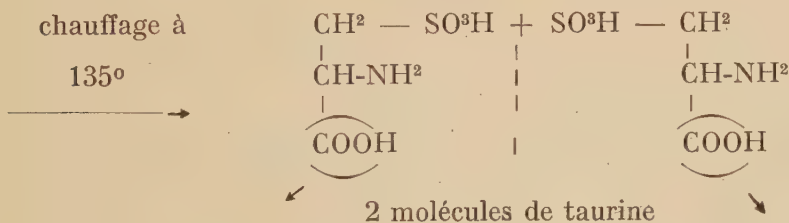
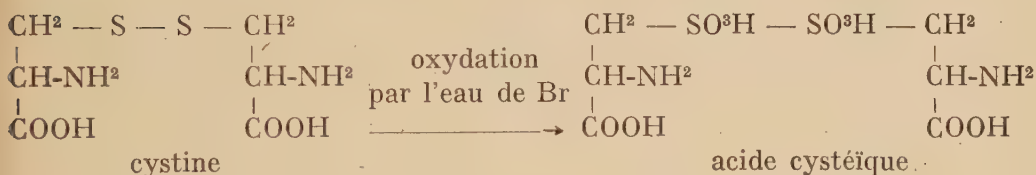
Par ébullition, soit avec des solutions alcalines (eau de baryte), soit avec des acides dilués, les acides glycocholique et taurocholique sont hydrolysés, et donnent :



Le glycocolle et la taurine sont deux acides aminés.

Le glycocolle provient du dédoublement des matières protéiques ; il fut découvert antérieurement par Braconneau (Nancy) en traitant la gélatine par l'acide chlorydrique dilué.

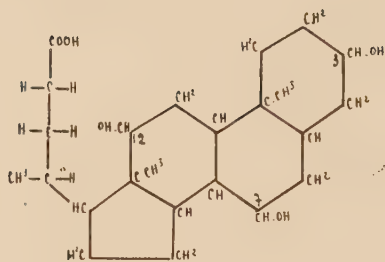
La taurine dérive de la cystine, amino-acide sulfuré qui provient du dédoublement des matières protéiques.



B) **ACIDE CHOLIQUE.** $\text{C}^{24} \text{H}^{40} \text{O}^5$ PM = 408

ou acide cholalique

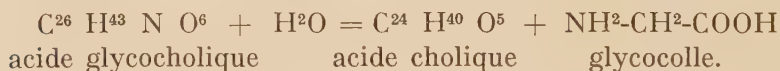
ou acide 3-7-12 trihydroxycholique (10).



Nous venons de voir que l'acide cholique ou cholalique est le principal produit de dédoublement des acides glycocholique et taurocholique. Il n'existe pas dans la bile fraîche, mais peut se former pendant la putréfaction ou dans le canal digestif, ainsi que dans le sang et l'urine, au dépend des acides biliaires (11).

a) Formation.

On obtient l'acide cholique, comme on l'a vu plus haut, par chauffage de l'acide glycocholique ou taurocholique avec des alcalis ou des acides, suivant :



b) Préparation.

1° **A partir de la bile** (d'après Lebeau et Courtois).

On chauffe pendant dix heures au bain-marie cinq parties de bile et une partie de lessive de soude à 30 %.

Le produit du chauffage est saturé par un courant de gaz carbonique, puis évaporé presque à siccité. Le magma est épuisé avec de l'alcool à 95° et les liqueurs alcooliques, après filtration, sont étendues d'une quantité suffisante d'eau pour abaisser le titre alcoolique à 20° : on précipite l'acide cholique sous forme de cholate de baryum en ajoutant à la solution alcoolique diluée une solution diluée de chlorure de baryum. Le cholate de baryum est isolé et décomposé par l'acide chlorhydrique. L'acide cholique formé est dissout dans l'alcool chaud et purifié par cristallisation.

2° Par hydrolyse de l'acide glycocholique.

On maintient seize heures à l'ébullition cinq cents parties d'acide et six cents parties d'eau additionnées de deux cents parties de baryte. La liqueur est filtrée à chaud ; on laisse refroidir et on traite par un léger excès d'acide chlorhydrique : le cholate de baryum est décomposé et l'acide cholique, peu soluble dans l'eau précipite. On le recueille, on le lave à l'eau chaude, on le purifie par dissolution dans l'alcool bouillant : par refroidissement l'acide cholique cristallise.

3° A partir de la bile de taureau (12). (Fel. tauri inspissatum).

Une partie de bile de taureau est dissoute dans dix à vingt parties d'eau et cette solution est chauffée durant cinq à sept jours avec cinq parties d'eau de baryte. Le chauffage terminé, on laisse reposer un jour, on filtre, on ajoute au filtrat un peu d'éther et une quantité suffisante d'acide chlorhydrique pour précipiter complètement l'acide cholique ; la solution est encore fortement colorée. Au bout de deux à quatre semaines, l'acide cholique devenu cristallin est filtré, puis recristallisé dans l'alcool. S'il est fortement coloré, on le lave avec une solution diluée de soude, qui dissout seulement la matière colorante.

c) Propriétés.

1. — Propriétés physiques.

Cristallographie (13) :

L'acide cholique recristallise dans l'éther aqueux en tables rhomboédriques, qui à 100° perdent leur eau de cristallisation et fondent ensuite à 194°.

Il recristallise dans l'alcool bouillant en tétraèdres ou en octaèdres. Si à la solution alcoolique on ajoute de l'eau jusqu'à apparition d'un trouble laiteux, à côté des tétraèdres, on obtient des aiguilles contenant une molécule d'eau.

L'acide cholique recristallise dans l'eau chaude en cristaux microscopiques.

L'acide cholique, anhydre, ou possédant une molécule d'eau, cristallise dans le système orthorhombique.

Point de fusion $F = 195^{\circ}$.

Solubilités :

L'acide cholique est à peine soluble dans l'eau (une partie d'acide dans 750 parties d'eau bouillante ou 4.000 parties d'eau froide) ; il est facilement soluble dans l'alcool et l'éther. D'après Strecker, une partie d'acide se dissout dans 25 parties d'éther ; selon Latschinow, une partie d'acide se dissout à 18° dans 510 parties d'éther. L'acide cholique est très faiblement soluble dans l'acide sulfurique (une partie d'acide dans 15.000 parties d'acide sulfurique froid ou 5.000 parties d'acide bouillant).

L'acide cholique et ses sels solubles sont dextrogyres

$$\alpha = + 37^{\circ} (14).$$

Ses solutions sont facilement altérables à l'air.

2. — Propriétés chimiques.

L'acide cholique est un monoacide possédant trois fonctions alcool secondaire :

a) Sels de l'acide cholique, d'après Strecker, Schlosser, Theyer. (15)

Le sel de sodium, $\text{Na C}^{24}\text{H}^{39}\text{O}^5$ et le sel de potassium, $\text{K C}^{24}\text{H}^{39}\text{O}^5$ cristallisent en solution alcoolique.

Le sel de magnésium, $\text{Mg (C}^{24}\text{H}^{39}\text{O}^5)^2$ se présente en tables brillantes, très facilement solubles dans l'eau, beaucoup plus dans l'eau froide que dans l'eau chaude ; très solubles dans l'alcool. Le cholate de calcium, $\text{Ca (C}^{24}\text{H}^{39}\text{O}^5)^2$ cristallise par addition d'éther. Le cholate de baryum, $\text{Ba (C}^{24}\text{H}^{39}\text{O}^5)^2 + 7\text{H}_2\text{O}$, d'après Schotten, cristallise d'une solution aqueuse en petites aiguilles solubles dans 30 parties d'eau froide et 23 parties d'eau bouillante ; le sel de baryum est très facilement soluble dans l'alcool et se sépare de l'alcool à l'état amorphe, en ajoutant une molécule d'eau, il reste à l'état cristallin.

Le cholate d'argent, $\text{Ag C}^{24}\text{H}^{39}\text{O}^5$ se présente sous forme d'un

précipité gélatineux, légèrement soluble dans l'eau bouillante et s'en séparant sous forme cristalline.

b) Propriétés relatives aux trois fonctions alcool secondaire (d'après Lebeau et Courtois).

Action des oxydants :

Par oxydation nitrique de l'acide cholique on obtient l'acide biloïdanique $C^{23} H^{34} O^{12}$, acide hexavalent ne possédant plus que trois noyaux benzéniques.

L'acide chromique en milieu acétique transforme l'acide cholique en un acide tricétonique, l'acide déhydrocholique, $C^{24} H^{34} O^5$.

Enfin, le permanganate donne un mélange d'acides bilianique et isobilianique, $C^{24} H^{34} O^8$.

Formation d'un éther-sel.

Chauffé avec des acides organiques dilués, en présence de bisulfate de potasse, l'acide cholique se déshydrate en donnant un éther à fonction mixte, non saturé, l'acide apocholique ou α -dioxycholénique $C^{24} H^{38} O^4$, de saveur légèrement amère.

Action des réducteurs.

Par réductions successives de l'acide cholique on obtient : l'acide désoxycholique, $C^{24} H^{40} O^4$ à deux fonctions alcool secondaire, puis l'acide lithocholique, $C^{24} H^{40} O^3$ à une seule fonction alcool secondaire enfin l'acide cholanique, $C^{24} H^{40} O^2$, ce dernier obtenu par Windaus à partir de la cholestérine.

Réaction de Pettenkofer.

Cette réaction est commune aux acides biliaires, à l'acide cholique et à ses sels.

A une solution diluée d'acide biliaire ou d'acide cholique, on ajoute les deux tiers de son volume d'acide sulfurique (cette addition devant se faire avec précaution et en refroidissant afin que la température ne dépasse pas 70°) puis quelques gouttes d'une solution de sucre à 10 % : il se développe aussitôt une coloration rouge

pourpre due à l'action sur les sels biliaires du furfurool, formé au contact de l'acide sulfurique sur le sucre.

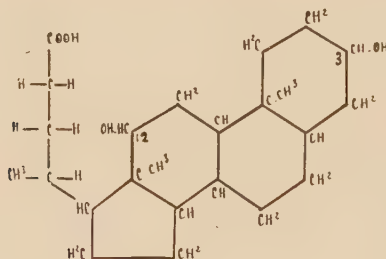
Udransky a modifié ainsi cette réaction :

A 1 centimètre cube de solution à essayer, il ajoute 1 centimètre cube d'une solution aqueuse de furfurool à 1 ‰ et 1 centimètre cube d'acide sulfurique (en opérant lentement).

C. ACIDE DÉSOXYCHOLIQUE $C^{24} H^{40} O^4$ PM = 392

ou acide choléique

ou acide 3-12 dihydroxycholique (16).



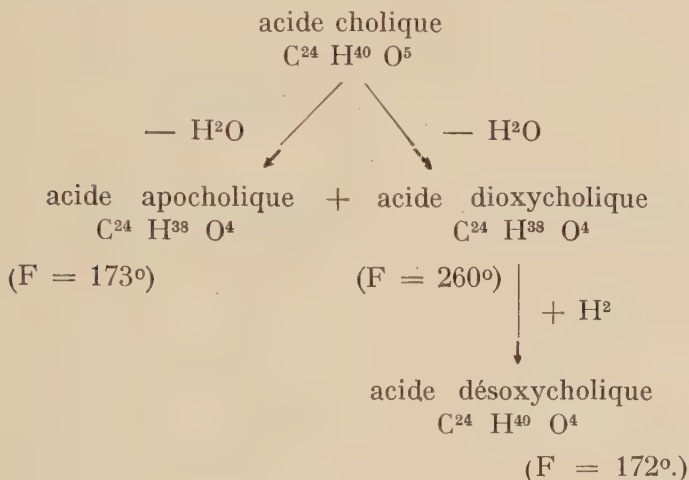
L'acide désoxycholique ou acide choléique est le premier terme de réduction de l'acide cholique : il ne possède plus que deux fonctions alcool secondaire en positions 3 et 12.

a) Formation.

Il fut isolé d'un échantillon de bile abandonnée pendant très longtemps à la putréfaction : l'acide cholique avait disparu, mais dans le magma cristallin précipité par l'acide acétique, Mylius retira, après quatre ou cinq recristallisations dans l'acide acétique, un acide se présentant en aiguilles rayonnées et qu'il identifia avec l'acide désoxycholique (17).

b) Préparation.

L'acide désoxycholique est obtenu par réduction de l'acide cholique ; l'opération se fait en deux temps : par perte d'une molécule d'eau, l'acide cholique se transforme en un mélange d'acides apocholique et dioxycholique ; l'hydrogénation de cet acide dioxycholique donne finalement l'acide désoxycholique. Voici résumés dans le tableau ci-dessous, les phases de l'opération et les produits intermédiaires (18) :



1° Déshydratation (19).

Dans une solution bouillante de 8 grammes 5 de chlorure d'étain dans 10 centimètres cubes d'acide acétique, on introduit 50 grammes d'acide cholique et on chauffe à reflux pendant 45 minutes. Le chauffage une fois terminé, on laisse refroidir, on verse le contenu du ballon dans l'eau froide et on ajoute du carbonate de soude en quantité suffisante pour neutraliser complètement l'acide acétique ; les acides biliaires précipitent, on les sépare, on les dissout dans une solution de soude diluée et on les reprécipite par addition d'acide chlorhydrique, ajouté lentement en ayant soin d'agiter après chaque addition. Les acides précipités sont essorés, lavés soigneusement à l'eau, séchés à la température ordinaire, puis à température légèrement croissante. Le produit brut obtenu se présente sous

l'aspect d'une poudre sablonneuse, légèrement jaunâtre, qui, de toute évidence est un mélange de plusieurs acides. Une petite portion de ce mélange dissoute à froid dans une solution de carbonate de soude décolore instantanément une solution de permanganate.

Pour séparer du mélange, l'acide cholique non transformé et les acides non saturés (acides qui n'ont pas été étudiés jusqu'à présent) on opère ainsi :

Le produit brut, bien sec, est finement broyé et agité avec une fois et demie autant d'éther ; on laisse ainsi en contact durant une nuit, on filtre, on lave le résidu soigneusement à l'éther, on réunit les solutions éthérées, on obtient finalement :

- a) *une solution éthérée,*
- b) *un résidu.*

a) *La solution éthérée* après distillation de l'éther, abandonne une résine jaunâtre, facilement soluble dans les alcalis dilués ou l'ammoniaque ; sa solution décolore immédiatement une solution de permanganate. Cette résine renferme les acides non saturés et l'acide cholique non transformé.

b) *Le résidu* du lavage à l'éther, résidu constitué par le mélange des acides apocholique et dioxycholique, est mis à digérer avec deux fois son volume d'alcool absolu ; l'acide apocholique se dissout facilement ; l'acide dioxycholique au contraire, reste en résidu : on le sépare et on le lave à l'alcool.

Purification des deux acides apocholique et dioxycholique.

Le filtrat alcoolique contenant l'acide apocholique est évaporé sous le vide. Le résidu de l'évaporation qui contient encore un peu d'alcool donne immédiatement avec le xylol un produit d'addition sous forme d'un magma de cristaux prismatiques ; ces cristaux sont lavés au xylol, puis à l'éther, et finalement séchés à l'air, puis à l'étuve. $F = 173^{\circ}$.

(20) Le résidu d'acide dioxycholique est recristallisé dans l'acide acétique. Les cristaux obtenus sont mélangés à deux fois leur volume d'alcool, ce traitement a pour but d'éliminer les traces

d'acide apocholique et d'acide acétique qui pourraient encore souiller le produit. On recommence ces lavages à l'alcool jusqu'à ce que le produit obtenu ait un point de fusion $F = 259-260^{\circ}$.

2^o *Hydrogénation.*

L'acide dioxycholique s'hydrogène avec une grande facilité, il fixe une molécule d'hydrogène et se transforme quantitativement en acide désoxycholique $C^{24} H^{40} O^4$, identique au produit obtenu directement à partir de la bile.

c) **Propriétés.**

1. — **Propriétés physiques.**

L'acide désoxycholique se présente en fines aiguilles blanches qui cristallisent dans l'alcool et dans l'acide acétique à 60 % (21).

Point de fusion $F = 172^{\circ}$; de saveur franchement amère.

Solubilités.

L'acide désoxycholique très soluble dans l'alcool est faiblement soluble dans l'acide acétique. Nous avons étudié sa solubilité dans d'autres solvants :

eau,
éther ordinaire,
éther de pétrole,
chloroforme,
benzène,

ceci :

a) à 10° ,

b) à la température d'ébullition du solvant.

a) *Détermination de la solubilité approximative à 10° .*

Dans un ballon de 50 centimètres cubes muni d'un réfrigérant on met 20 centimètres cubes de solvant et un excès d'acide désoxycholique, on fait bouillir pendant une heure. Puis on refroidit dans un bain d'eau courante à 10° , la solution doit être saturée à froid.

On filtre rapidement, on prélève 10 centimètres cubes de la solution à l'aide d'une pipette, on introduit dans un Erlenmeyer taré (p) et bouché. On pèse, soit p' :

$$p' - p = \text{poids de solution.}$$

On évapore à sec, on met quelques instants dans le vide et on pèse à nouveau, soit p'' :

$$p'' - p = \text{poids d'acide.}$$

On déduit la solubilité % de solvant d'après :

$$\frac{\text{poids d'acide} \times 100}{\text{poids du solvant pur}} = \text{solubilité \%}.$$

b) Détermination de la solubilité approximative à la température d'ébullition du solvant.

Dans un ballon de 50 centimètres cubes muni d'un réfrigérant on met 20 centimètres cubes de solvant et on introduit l'acide peu à peu jusqu'à saturation. Celle-ci, une fois atteinte, il est nécessaire de chauffer encore pendant une heure. On filtre rapidement à chaud, et on recueille dans un Erlenmeyer taré, chauffé et bouché. On pèse et on termine comme ci-dessus. Cette détermination étant assez délicate, nous avons recommencé plusieurs fois chacun des essais.

Voici les résultats obtenus :

<i>Solvants</i>	<i>Solubilités %</i>	
	<i>à 10°</i>	<i>à ébullition.</i>
eau	0,85	0,1
éther de pétrole (30<Eb<70°).....	0,002	0,045
benzène	0,7	1,1
chloroforme	0,0001	0,0001
éther ordinaire	0,04	0,301

2. — Propriétés Chimiques.

Avec l'alcool méthylique, l'acide désoxycholique donne un éther méthylique de formule $C^{25} H^{42} O^4$; PM : 406, fondant à 92° et se sublimant dès 82° .

L'éther éthylique $C^{26} H^{44} O^4$; PM : 420, se présente sous forme d'aiguilles. Point de fusion $F = 81^{\circ}$.

L'amide $C^{24} H^{41} O^3 N$; PM : 391, cristallise en aiguilles fondant à 186° et commençant à se sublimer dès 162° .

Avec l'acide acétique, l'acide désoxycholique donne un composé moléculaire stable, l'acide acétocholéinique (22). A la suite d'un repos prolongé dans un excicateur à acide sulfurique, ce composé subit une perte en acide acétique. Cette décomposition assez rapide n'est cependant pas terminée au bout de 300 jours. Le point de fusion, primitivement de 140° , descend jusqu'à 134° , pour remonter par la suite, petit à petit, jusqu'à $F = 150^{\circ}$.

DEUXIÈME PARTIE

LE MÉTHYLCHOLANTHRÈNE

I. — SYNTHÈSES DU MÉTHYLCHOLANTHRÈNE

Historique.

En 1925, Wieland et Dane (23) montrent que l'acide 12-céto-cholanique, provenant de l'acide desoxycholique peut être déshydraté en déhydronorcholène.

En 1933, Cook et Haslewood (24) entreprennent la déshydrogénation de ce carbure non saturé, ce qui les conduit à un hydrocarbure benzanthracénique avec substitution en positions 5 et 6 ; à la même époque, les deux savants allemands Wieland et Dane, poursuivant la désintégration de l'acide cholique, arrivent au même but (25) : cet hydrocarbure nouveau fut appelé par ses auteurs « méthylcholanthrène ».

En 1935, Fieser et Newman (26) préconisent un procédé plus rapide de synthèse, en partant de l'acide cholique et en passant par l'acide tricétonique (acide déhydrocholique).

A. Synthèse de Fieser et Newman, à partir de l'acide cholique (27).

Voici le mode opératoire indiqué par les auteurs :

« 200 grammes d'acide cholique en solution acétique sont oxydés par un mélange acéto-chromique (150 grammes d'acide chromique anhydre dissous dans 150 centimètres cubes d'eau et

600 centimètres cubes d'acide acétique à une température de 30 à 40°). L'oxydation doit durer de 2 heures et demie à 3 heures. D'après la méthode d'Hammarsten, on obtient comme produit d'oxydation 140 grammes d'acide tricétonique, acide déshydrocholique, point de fusion $F = 237-238^{\circ}$.

L'acide tricétonique est réduit en acide 3-7 déhydroxy 12-cétocholanique : ce dernier est soumis à la pyrolyse, à $260-280^{\circ}$ pendant une heure, à $320-330^{\circ}$ pendant 8 à 9 heures, puis distillé dans le vide. Le produit visqueux qui passe à la distillation est probablement un mélange de norcholatriènes ; on le chauffe, avec 20-25 grammes de sélénium que l'on ajoute en plusieurs portions, à $320-330^{\circ}$ durant 48 heures. Après extraction par le benzène, distillation et purification par le picrate, on obtient 2 grammes à 2 grammes 2 de méthylcholanthrène jaune orangé, point de fusion $F = 177-178^{\circ}$.

On dissout l'hydrocarbure dans le benzène, on le purifie par de l'aluminium activé, on obtient finalement des aiguilles jaunes de méthylcholanthrène, point de fusion $F = 178-179^{\circ}$. »

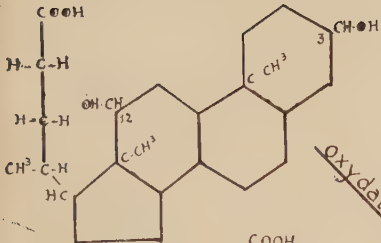
B. Synthèse à partir de l'acide désoxycholique

C'est cette synthèse, la première en date, que nous avons entreprise et mise au point. A cet effet nous avons essayé de préparer l'acide désoxycholique, en commençant par traiter la bile pour en extraire les acides biliaires et préparer à partir de ceux-ci l'acide cholique. Mais bien vite nous avons constaté que cette opération était rendue presque impossible, par l'énorme quantité de bile qu'il aurait été nécessaire de traiter : plus de cent litres de bile pour obtenir la quantité d'acide désoxycholique nécessaire à notre travail.

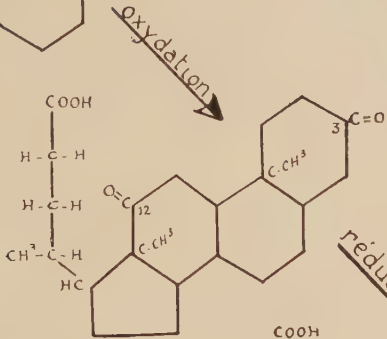
Nous avons fort heureusement pu nous procurer 500 grammes d'acide désoxycholique chez « Boehringer-Sohn » à Nieder-Ingelheim Am Rhein.

La synthèse du méthylcholanthrène à partir de l'acide désoxycholique s'effectue en quatre temps, à savoir :

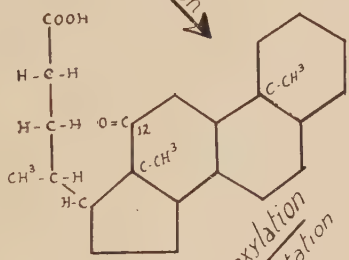
Oxydation de l'acide désoxycholique en acide 3-12-dicétocholanique.



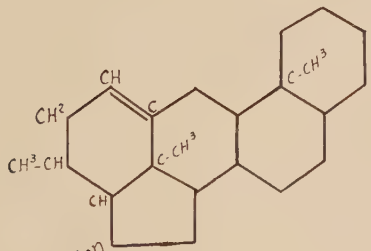
acide désoxycholique



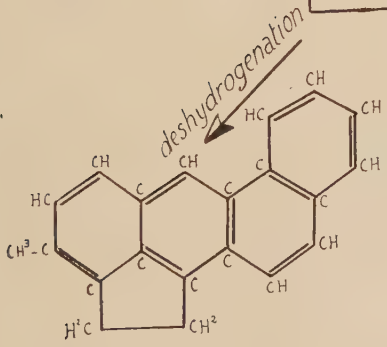
acide 3-12 dicétocolanique



acide 12 cétocholannique



deshydronorcholène



méthylcholanthrène

TABLEAU N° III

Réduction de l'acide 3-12-dicétocholannique en acide 12-cétocholannique.

Déshydratation et décarboxylation de l'acide 12-cétocholannique en déhydronorcholène.

Déshydrogénation du déhydronorcholène en méthylcholanthrène.

Au cours des opérations on obtient les produits intermédiaires suivants :

acide 3-12-dicétocholannique,
acide 12-cétocholannique
déhydronorcholène. (Voir Tableau N° III).

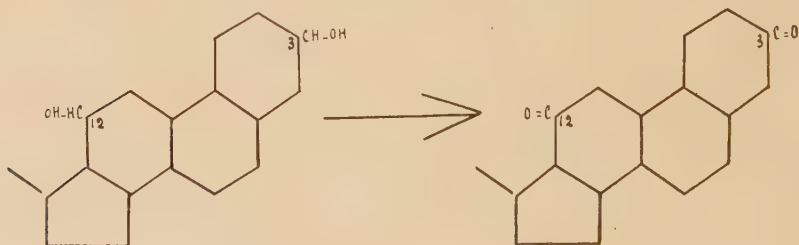
Opérations qui ont pour résultats :

- a) la cyclisation de la chaîne.
- b) la déshydrogénation du système nucléaire.

a) Première opération

Passage de l'acide désoxycholique à l'acide 3-12-dicétocholannique par oxydation.

Les deux groupements OH en position 3 et 12 dans l'acide désoxycholique sont oxydés par un mélange acéto-chromique en deux groupements cétoniques CO, pour donner l'acide 3-12-dicétocholannique suivant :



Partie bibliographique.

Wieland et Sorge (28) préconisent pour cette oxydation la méthode de Latschinoff et Pregl, oxydation par l'acide chromique dans l'acide acétique cristallisable. Ils recommandent de ne pas élever la température au-delà de 25°. Voici le mode opératoire indiqué par Pregl : (29)

« 2 grammes d'acide désoxycholique sont dissous dans 20 centimètres cubes d'acide acétique cristallisable; on ajoute, centimètre cube par centimètre cube, une solution de 2 grammes d'acide chromique dans 20 centimètres cubes d'acide acétique cristallisable, l'addition est réglée de façon que la température ne dépasse pas 45°; on utilise généralement 16 centimètres cubes de solution oxydante. Le produit de la réaction, versé dans 400 centimètres cubes d'eau et chauffé au bain-marie, abandonne des cristaux; on refroidit et on essore. Le produit est alors dissout à chaud dans une solution ammoniacale diluée, et reprécipité de cette solution, à l'état d'acide libre, par une solution diluée d'acide chlorhydrique. L'acide essoré est dissout dans l'alcool dilué, et déplacé de cette solution alcoolique chaude par addition d'eau jusqu'à apparition d'un léger trouble.

Par recrystallisations successives, on arrive à l'acide 3-12-dicétocholanique, de point de fusion constant $F = 188^{\circ}$. »

Partie expérimentale.

Dans une première opération nous avons suivi exactement le mode opératoire indiqué par Pregl :

a) Oxydation proprement dite.

Dans un ballon ordinaire de 100 centimètres cubes, nous avons mis 2 grammes d'acide désoxycholique et 20 centimètres cubes d'acide acétique cristallisable : l'acide désoxycholique ne se dissout pas, étant pratiquement insoluble dans l'acide acétique à froid. A l'aide d'une burette, on fait couler dans le ballon centimètre cube par centimètre cube d'une solution de 2 grammes d'acide chromique dans 20 centimètres cubes d'acide acétique cristallisable. La

température s'élève légèrement, aussi est-il nécessaire d'ajouter très lentement la solution oxydante, en agitant après chaque addition. Bientôt tout l'acide désoxycholique est dissout et la solution brune du début de l'opération, devient complètement verte ; on ajoute encore quelques centimètres cubes de solution acétochromique, la solution dans le ballon brunit ; on cesse alors l'addition : on a versé 16 centimètres cubes de solution oxydante, c'est-à-dire un léger excès. L'opération a duré 1 heure. Le produit de la réaction est versé dans un ballon contenant 400 centimètres cubes d'eau et maintenu 1 heure environ au bain-marie bouillant. Le louche abondant qui s'était formé au moment où le produit de l'oxydation était versé dans l'eau, ne tarde pas à augmenter et à prendre un aspect cristallin. On retire alors le ballon du bain-marie et on laisse en repos quelques heures. On essore et on obtient un abondant magma vert pâle.

b) Elimination de l'acide acétique.

Ce magma est dissout à chaud dans 50 centimètres cubes d'ammoniaque diluée au $\frac{1}{2}$: après dissolution complète, on cesse le chauffage, on laisse refroidir puis on filtre. L'acide 3-12-dicétocholanique est reprécipité de la solution ammoniacale par addition d'acide chlorhydrique dilué (au $\frac{1}{2}$ environ) jusqu'à virage net du papier de tournesol et fin de précipitation : on essore l'acide formé qui se présente sous l'aspect d'un produit blanc, amorphe, qu'il convient de recristalliser.

c) Recristallisation de l'acide 3-12-dicétocholanique.

L'acide est dissout au bain-marie bouillant dans 150 centimètres cubes d'alcool à 45° ; dans la solution alcoolique chaude on verse quelques centimètres cubes d'eau jusqu'à apparition d'un trouble, on laisse refroidir lentement. Après essorage, séchage à l'air puis à l'étuve à 100° pendant une demi-heure, nous avons obtenu 1 gramme 25 d'un produit de point de fusion $F=189^{\circ}$, bien cristallisé en feuillets miroitants, que nous avons identifié comme étant l'acide 3-12-dicétocholanique.

Rendement de l'opération = 62,5 %

Afin d'augmenter le rendement nous avons entrepris par la suite une étude systématique de cette opération.

a) Appareillage.

Nous avons imaginé ceci : l'agitation à la main étant fastidieuse, nous avons employé un agitateur mécanique et le dispositif suivant. Au lieu du ballon ordinaire, nous emploierons un ballon pyrex de 200 centimètres cubes à deux tubulures latérales et muni d'un agitateur mécanique, dispositif identique à celui utilisé pour la préparation des magnésiens. Une des tubulures sera obturée par un bouchon laissant passer un tube à brome contenant la solution acéto-chromique, l'autre sera libre.

b) Mode opératoire.

Nous avons fait varier successivement :

1° La concentration de la solution oxydante :

solution à 6 % d'acide chromique,
solution à 10 % d'acide chromique,
solution à 15 % d'acide chromique.

2° La vitesse d'oxydation, afin d'ajouter la solution acéto-chromique en :

1 heure,
2 heures,
3 heures.

3° la température d'oxydation, en opérant à :

0°,
la température du laboratoire 20-25°.
40°.

Voici dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus en faisant varier ces trois facteurs : temps, concentration de la solution oxy-

dante et température, avec indication des rendements pour cent en acide 3-12-dicétocholanique :

	1 heure			2 heures			3 heures		
	solut. à 6 %	à 10 %	à 15 %	à 6 %	à 10 %	à 15 %	à 6 %	à 10 %	à 15 %
à 0°	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25°	—	71,25	67,5	—	72,5	68,75	—	75,5	70
40°	—	57	56	—	58,25	56,5	—	65	56,5

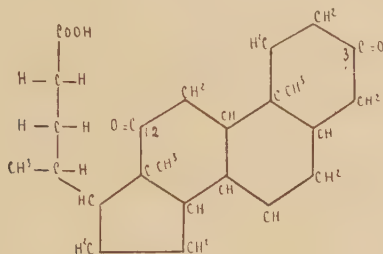
A 0° ou en employant une solution oxydante trop faible, l'opération ne marche pas et on obtient, ou bien de l'acide désoxycholique (point de fusion $F=172^{\circ}$), ou bien un produit incomplètement oxydé, dont le point de fusion, malgré des recristallisations successives, ne dépasse guère $182-183^{\circ}$; à la suite d'une oxydation infructueuse, il nous est arrivé d'obtenir un produit de point de fusion $F = 162^{\circ}$, que nous n'avons pu déterminer.

Il résulte des essais précédents que la température la plus favorable est de 20 à 25° , avec une solution à 10% d'acide chromique dans l'acide acétique cristallisable. La durée de l'oxydation augmente considérablement le rendement, ainsi qu'en témoigne le tableau précédent. Les meilleurs rendements ont été obtenus en laissant couler goutte à goutte la solution oxydante en agitant sans arrêt durant 3 heures. Les rendements ont atteints 80 et même $83,75\%$ en acide 3-12-dicétocholanique.

La façon d'opérer la recristallisation n'est pas non plus négligeable : une recristallisation brusque par refroidissement sous un courant d'eau froide est la plus favorable au point de vue rendement, taille et éclat des cristaux d'acide 3-12-dicétocholanique. Voici la façon dont nous opérons : dans un cristallisateur pyrex d'assez grande taille on verse la solution alcoolique et chaude d'acide 3-12-dicétocholanique ; l'eau est ajoutée avec précaution, au premier trouble on cesse l'addition et le cristallisateur, recouvert d'une plaque

de verre est immergé dans une conserve remplie d'eau. On laisse en repos quelques heures avant que d'essorer.

L'acide 3-12-dicétocholanique $C^{24} H^{36} O^4$ P.M. = 388
ou acide déhydro-désoxycholique.



est joliment cristallisé. Latchinoff parle de « feuillets brillants, déchiquetés et irréguliers ».

Point de fusion F = 189-190°.

Il est très facilement soluble à froid dans l'alcool à 90°, dans l'acide acétique, le chloroforme ; pratiquement insoluble à chaud comme à froid dans l'éther de pétrole ; faiblement soluble à froid dans l'éther ordinaire, mais très soluble à chaud ; insoluble dans le benzène à froid, mais très soluble à chaud.

Pouvoir rotatoire spécifique, concentration 1,987 % (30).

angle lu : 1,83°.

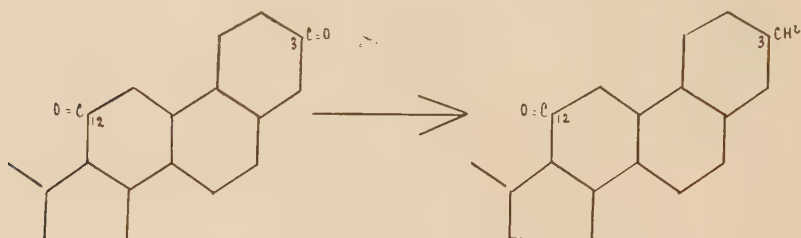
$(\alpha)_D^{20} = + 92,09^\circ$.

b) Deuxième opération

Passage de l'acide 3-12-dicétocholanique à l'acide 12-cétocholanique par réduction.

Le groupement cétonique en position 3 dans l'acide 3-12-dicé-

tocholanique est réduit par action de l'acide chlorhydrique sur de la grenaille de zinc, en acide 12-cétocholanique, suivant :



Partie bibliographique.

a) Voici la méthode indiquée par Wieland et Schlichting (31) :

« 5 grammes d'acide déhydro-désoxycholique sont dissous dans 60 centimètres cubes d'alcool ; on ajoute 50 grammes de zinc (en lames minces de 3 centimètres) et 20 à 30 centimètres cubes d'acide chlorhydrique concentré. On porte au bain-marie bouillant et on munit d'un réfrigérant. Lorsque le dégagement d'hydrogène se ralentit, on ajoute 10 centimètres cubes par 10 centimètres cubes, un volume de 120 centimètres cubes d'acide chlorhydrique : on règle ces additions de façon que l'opération dure au total 15 heures. Par refroidissement, l'éther cétocholanique formé cristallise de la solution, on ajoute de l'eau et on extrait à l'éther. La solution étherée, après neutralisation par le carbonate de soude, séchage sur le chlorure de calcium et évaporation, abandonne de jolis cristaux d'acide 12-cétocholanique. Après recristallisation dans l'alcool du produit obtenu, on obtient l'acide 12-cétocholanique parfaitement pur, de point de fusion $F = 187^{\circ}$. »

b) Cook et Haslewood emploient une autre méthode (32) ; c'est celle préconisée par Wieland et Dane (33), pour la réduction de l'acide déhydrocholique en acide 7-12-dicétocholanique.

(L'acide déhydrocholique ou acide 3-7-12-tricétocholanique se transforme en acide 7-12-dicétocholanique par réduction du groupement cétonique en position 3, opération identique à celle que nous avons à faire ici et par laquelle l'acide 3-12-dicétocholanique

par réduction du groupement cétonique en position 3, doit se transformer en acide 12-cétocholanique.)

« 20 grammes d'acide déhydrocholique sont dissous dans 200 centimètres cubes d'alcool, on ajoute 200 grammes de zinc en petits morceaux et 40 centimètres cubes environ d'acide chlorhydrique concentré : on chauffe pendant 22 heures en ajoutant 20 centimètres cubes d'acide chlorhydrique toutes les heures. Le rendement dépend presque uniquement de la pureté du zinc ; il est recommandé de n'utiliser que du « zinc pur pour analyses ». L'éther 7-12-cétocholanique formé cristallise par refroidissement ; point de fusion $F = 146^{\circ}$. Après recristallisations dans l'alcool le point de fusion monte à 162° . Le rendement en éther 7-12-dicétocholanique est d'environ 80 %.

10 grammes de cet éther sont chauffés à reflux pendant une heure, avec 40 centimètres cubes d'une solution de méthylate de sodium. A la solution alcaline fortement diluée, on ajoute avec précaution et en agitant, une solution diluée et chaude d'acide sulfurique : il y a précipitation ; le précipité huileux à chaud, devient gélatineux par refroidissement. On essore, on recristallise dans l'alcool l'acide obtenu jusqu'à point de fusion constant $F = 177^{\circ}$.

Partant de 10 grammes d'éther 7-12-dicétocholanique, on a obtenu 8 grammes 3 d'acide 7-12-dicétocholanique pur. »

Partie expérimentale.

C'est cette dernière méthode que nous avons utilisée et nous avons opéré de la façon suivante :

a) Réduction.

Dans un ballon ordinaire de 200 centimètres cubes muni d'un réfrigérant ascendant, 5 grammes d'acide 3-12-dicétocholanique sont dissous dans 50 centimètres cubes d'alcool ; on ajoute 50 grammes de zinc distillé pur « en aiguilles » et 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique concentré, on porte au bain-marie bouillant et

on chauffe avec précaution. Après une heure de chauffage, le dégagement d'hydrogène diminue, on ajoute 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique, et ainsi toutes les heures, pendant les 15 heures de chauffage. L'opération terminée, on laisse refroidir. L'éther 12-cétocholanique cristallise par refroidissement en une sorte de croûte épaisse et blanchâtre que l'on sépare du zinc qui n'a pas réagi et de la solution qui dégage une forte odeur de chlorure d'éthyle. Cette croûte, soigneusement lavée à l'eau, séchée avec précaution, est réduite en poudre et pesée. On obtient finalement 4 grammes 20 d'une poudre blanche, amorphe, de point de fusion $F = 95^{\circ}$.

Le rendement en éther 12-cétocholanique a été de 84 %

b) Saponification de l'éther 12-cétocholanique.

Nous avons préparé d'abord la solution de méthylate de sodium : 10 grammes de soude sont introduits dans un ballon ordinaire avec 250 centimètres cubes d'alcool méthylique, on munit d'un réfrigérant et on chauffe légèrement au bain-marie en maintenant une heure à une calme ébullition. On filtre sur du coton de verre.

20 centimètres cubes de cette solution sont introduits dans un ballon avec les 4 grammes 20 d'éther 12-cétocholanique obtenus dans l'opération précédente ; le tout est chauffé pendant une heure à reflux : l'éther se dissout entièrement. On dilue fortement la solution, on la remet quelques instants au bain-marie, puis on la verse lentement et en agitant dans une solution diluée et chaude d'acide sulfurique (au $\frac{1}{2}$ environ) : l'acide 12-cétocholanique précipite en masses cristallines, on laisse refroidir et on essore. On sèche et on prend le point de fusion $F = 180^{\circ}$ - 181° . L'acide 12-cétocholanique formé n'est donc pas pur, il convient de le recrystalliser.

c) Recrystallisation de l'acide 12-cétocholanique.

L'acide est dissous dans 50 centimètres cubes d'alcool à 90° ; on porte quelques instants au bain-marie bouillant et on filtre rapidement à chaud : l'acide précipite immédiatement en fines paillettes brillantes que l'on essore après complet refroidissement, on sèche à l'air puis sous le vide. On obtient 2 grammes 20 d'acide 12-céto-

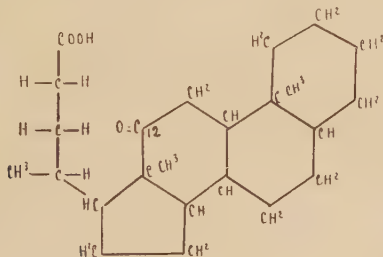
cholanique, point de fusion $F=186^{\circ}5-187^{\circ}$, d'accord avec Wieland et Schlichting. Si à la solution essorée, on ajoute quelques centimètres cubes d'eau, il se produit une nouvelle précipitation ; onessore à nouveau, on sèche et on pèse. On obtient 0 gramme 20 d'un produit à point de fusion $F=184-185^{\circ}$, produit qui n'est autre que de l'acide 12-cétocholanique impur à recrystalliser.

En étudiant cette opération d'assez près, nous nous sommes demandé s'il n'était pas possible d'en augmenter le rendement ; Wieland et Dane insistent spécialement sur l'extrême pureté du zinc, Wieland et Schlichting emploient pour la même opération du zinc en lames minces de 2 à 3 centimètres. Nous avons utilisé des aiguilles de zinc de 2 à 3 centimètres de long et de grande pureté que nous avons morcelées en fragments plus réduits ; de ce fait la surface d'attaque du zinc se trouve sensiblement augmentée et le dégagement d'hydrogène plus constant.

En opérant ainsi le rendement se trouve augmenté de 5 à 6 %.

Pour la recrystallisation de l'acide 12-cétocholanique, au lieu d'employer de l'alcool absolu dans lequel l'acide est excessivement soluble et en conséquence recrystallise incomplètement, nous employons l'alcool à 45° : la recrystallisation est totale et le rendement en acide 12-cétocholanique atteint 70 à 75 %.

L'acide 12-cétocholanique $C^{24} H^{38} O^3$ PM = 374.



se présente en jolis cristaux, d'aspect brillant.

Point de fusion $F = 187^{\circ}$.

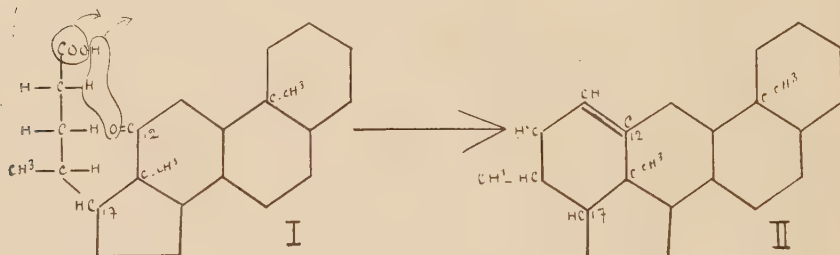
Il est très soluble dans l'alcool absolu, l'acide acétique et le chloroforme ; pratiquement insoluble dans l'éther de pétrole ; faci-

lement soluble à froid comme à chaud dans l'éther ordinaire ; insoluble dans le benzène à froid mais très soluble à chaud.

c) Troisième opération.

Passage de l'acide 12-cétocholanique au déhydronorcholène par déshydratation et décarboxylation.

Chauffé à une température supérieure à 300°, l'acide 12-cétocholanique perd une molécule d'eau et une molécule de gaz carbonique et, par cyclisation de la chaîne latérale, donne le déhydronorcholène à 4 noyaux benzéniques, suivant :



Les acides oxycholaniques isolés de la bile donnent tous sans exception, à une température supérieure à 300°, autant de molécules d'eau qu'ils renferment de groupes hydroxyles dans leur molécule. Il se forme alors des acides non saturés avec autant de doubles liaisons qu'il y avait auparavant de groupements hydroxyles (34). L'acide 12-cétocholanique étudié va se comporter de la même façon et, par perte d'une molécule d'eau et d'une molécule de gaz carbonique, donner le déhydronorcholène renfermant un cinquième noyau avec une double liaison (II). Le passage de (I) à (II) donne à la chaîne latérale la position fixe en C¹⁷, toutes les autres possibilités sont écartées, seules les positions en C¹⁶ ou C¹⁵ sont discutables. Mais nous verrons, dans une opération suivante que le déhydronorcholène, déshydrogéné par le sélénium, se transforme en un hydrocarbure fortement coloré en jaune, de composition C²¹ H¹⁶, dont la formation se déduit aisément de la formule (II) (35).

Partie bibliographique.

a) Voici d'après Wieland et Schlichting le mode opératoire suivi pour déshydrogérer et décarboxyler l'acide 12-cétocholanique (36) :

« 2 grammes d'acide 12-cétocholanique de point de fusion $F=187^{\circ}$, sont chauffés lentement dans un bain de nitrate du Chili à 300° d'abord, à $320-330^{\circ}$ ensuite, sous un courant de gaz carbonique : on maintient 7 heures à cette température. Sur les parois du ballon, se condensent des gouttelettes d'eau, et la majeure partie de l'acide se transforme en une huile épaisse jaune claire : pour terminer, on fait le vide quelques instants et on distille rapidement. Le distillat est dissout dans l'éther et la solution étherée est agitée avec de la soude : l'acide cétonique qui n'a pas été transformé passe à l'état de sel de soude insoluble que l'on sépare de la solution étherée. Par évaporation de cette solution on obtient le déhydronorcholène $C^{26} H^{36}$, on le purifie par recristallisation dans l'alcool ou dans l'acide acétique, dans lesquels il est difficilement soluble, jusqu'à point de fusion $F = 117^{\circ}$. »

b) Cook et Haslewood, au cours de leur préparation du méthylcholanthréne, indiquent brièvement la façon dont ils ont obtenu le déhydronorcholène (37).

« 8 grammes d'acide 12-cétocholanique sont chauffés à $320-345^{\circ}$, pendant 8 heures et dans une atmosphère de gaz carbonique : le produit résineux obtenu est distillé dans le vide. La fraction distillant de 200 à 215° sous un vide de 4 mm., recristallisée dans l'alcool, abandonne de longues aiguilles incolores de déhydronorcholène ; le rendement est de 20 à 25 %.

Partie expérimentale.

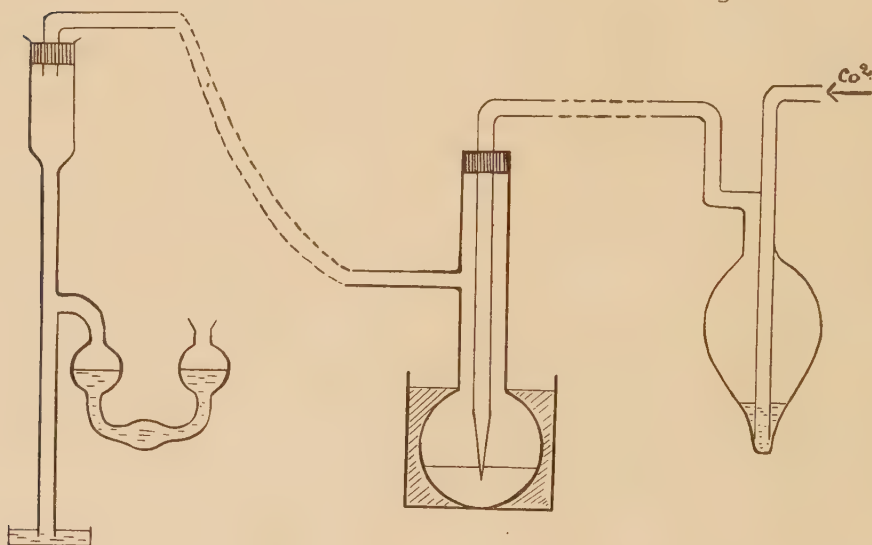
Pour cette opération il est nécessaire de maintenir le produit à une température constante de 320 à 340° et ceci pendant 8 heures ; à cet effet, nous avons décidé d'immerger le ballon contenant

l'acide 12-cétocholanique dans un bain de plomb-étain ; le plomb forme avec l'étain un eutectique à 37 % de plomb et fondant à 182°. Dans un récipient en fer, nous avons mis les poids convenables de plomb et d'étain (2 kg. d'étain pour 1 kg. 243 de plomb) : le mélange a été fondu.

16 grammes d'acide 12-cétocholanique bien sec sont introduits dans un ballon à distiller en pyrex : ce ballon est obturé par un bouchon livrant passage à un tube de verre, l'une des extrémités du tube est effilée et plonge dans le ballon, l'autre est reliée par un caoutchouc à vide à un barboteur de Gloez contenant de l'acide sulfurique, ce barboteur est relié lui-même à une bombe à gaz carbonique par l'intermédiaire d'un mano-détendeur.

Le tube latéral du ballon est mis en communication avec un tube de sûreté à boules contenant de l'acide sulfurique (la figure ci-dessous nous dispense d'explications).

Fig. 1



L'appareil, bien étanche, est mis en place à l'aide de supports et de pinces ; le ballon est plongé avec précaution dans l'eutectique fondu ; on règle le chauffage et le dégagement de gaz carbo-

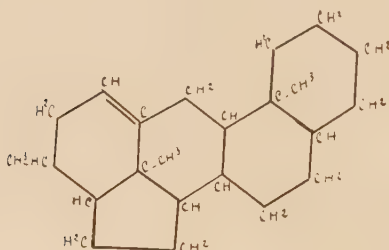
nique à raison d'une bulle toutes les deux à trois secondes, au niveau des barboteurs.

Pendant 8 heures la température est maintenue à 320-340° ; on laisse refroidir sous une atmosphère de gaz carbonique. Le produit obtenu est une résine épaisse et jaunâtre que l'on distille. De 0 à 200° distille, sous l'aspect d'une huile épaisse et brunâtre, une faible portion du produit ; bien vite nous avons vu qu'il était nécessaire de fractionner le distillat et de séparer en premier lieu cette première portion, qui, par la suite, gêne à la recristallisation du déhydronorcholène et de ce fait diminue considérablement le rendement. La portion moyenne, qui distille de 200 à 215°, est une résine jaune claire qui ne tarde pas à cristalliser : la masse se ponctue de germes de cristallisation qui grossissent et l'envahissent bientôt toute entière. Mais l'ensemble reste poisseux et il est nécessaire de recristalliser.

Nous avons employé l'alcool absolu et nous avons mis à profit les différences de solubilités des constituants : la partie poisseuse (acide 12-cétocholanique non transformé) soluble dans l'alcool bouillant et pratiquement insoluble dans l'alcool tiède, le déhydronorcholène soluble dans l'alcool à 50° comme dans l'alcool bouillant. Le produit impur est épuisé une première fois par 10 centimètres cubes d'alcool, en chauffant très légèrement au bain-marie aux environs de 50° : on filtre rapidement, le déhydronorcholène précipite par refroidissement en longues aiguilles blanches, soyeuses, que l'on essore avec précaution. L'alcool séparé sert à épuiser une seconde fois la masse impure, on recommence 5 à 6 épuisements semblables : le résidu est formé d'acide 12-cétocholanique non transformé que l'on récupère.

Le rendement atteint a été de 25 à 30 % en déhydronorcholène :

Le déhydronorcholène. $C^{23} H^{36}$ PM = 312.



cristallise en longues aiguilles blanches, soyeuses, très légères.

Point de fusion $F = 117^{\circ}$.

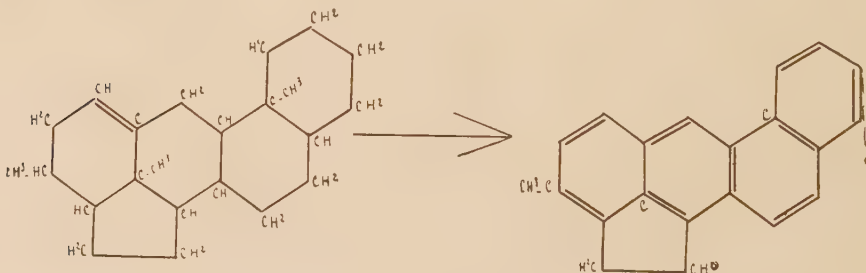
Il est insoluble dans l'acide acétique et dans l'alcool à froid, facilement soluble à chaud. Très facilement soluble dans l'éther, l'éther acétique, le benzène et l'éther de pétrole.

L'action du brôme ou du permanganate met en évidence la non saturation de la substance.

d) Quatrième opération.

Passage du déhydronorcholène au méthylcholanthrène par déshydrogénation.

Par chauffage du déhydronorcholène avec le sélénium, les quatre cycles hexagonaux hydroaromatiques se transforment en quatre cycles hexagonaux aromatiques ; en même temps, il y a perte des deux groupements méthyl en positions 10 et 13 et obtention du méthylcholanthrène, d'après :



Partie bibliographique.

a) Wieland et Dane opèrent cette déshydrogénation de la façon suivante : (38)

« 6 grammes de déhydronorcholène, intimement broyés avec 8 grammes de sélénium gris sont chauffés, 3 heures à 150-160°, puis 25 heures à 320° (si le chauffage est plus court, ou la température plus basse la déshydrogénation n'est pas complète). Le produit obtenu, résine jaune foncé, faiblement fluorescente, est dissoute dans le benzène ; la solution est filtrée pour la débarrasser du sélénium. On chasse le benzène et le résidu est distillé dans le vide. La première fraction, incolore, ne cristallise pas; la fraction moyenne, colorée en jaune et distillant à 280° sous 80 mm, cristallise immédiatement ; le résidu rouge-brun de la distillation a donné, après plusieurs recristallisations, un hydrocarbure mal cristallisé.

La portion moyenne, recristallisée dans le benzène ou l'anhydride acétique, abandonne finalement, après un lent refroidissement des aiguilles jaunes, de point de fusion $F = 172^\circ$ ».

b) Dans un mémoire plus récent, Cook et Haslewood indiquent ce mode opératoire (39) :

« 5 grammes de déhydronorcholène sont chauffés avec 15 grammes de sélénium à 320-340° pendant 47 heures. Le chauffage terminé, on laisse refroidir et au bout de 28 heures le produit cristallise. On le dissout dans le benzène, on chasse le benzène et le résidu est distillé dans le vide. La première fraction (222 à 227° sous 3-4 mm), se présente sous l'aspect d'une huile foncée ne cristallisant pas ; traitée par l'acide picrique en solution alcoolique, 50 milligrammes de méthylcholanthrène ont été isolés de cette première fraction. La fraction moyenne (240 à 260° sous 3-4 millimètres) est une huile orange, beaucoup plus claire que la précédente et cristallisant en partie : une recristallisation dans un mélange benzène-alcool a donné 0 gramme 35 de méthylcholanthrène impur (point de fusion $F = 163-167^\circ$). Le résidu de distillation a été sublimé à 240° sous 4 millimètres ; le sublimat, recristallisé dans le mélange benzène-alcool, a donné 1 gramme 65 de méthylcholanthrène. »

Partie expérimentale.

Nous avons essayé de mettre au point la déshydrogénation du déhydronorcholène en méthylcholanthrène. La première difficulté était d'assurer pendant 48 heures un chauffage à température constante entre 320-340°. Nous avons utilisé à cet usage un four à résistance.

Description du four.

Autour d'un tube en terre de 60 centimètres de long et de 4 centimètres de diamètre, nous avons enroulé un fil en nickel-chrome, qui fut ensuite noyé dans un ciment spécial à l'alundum ; l'ensemble fut calorifugé par plusieurs épaisseurs d'amiante en fibres et de carton d'amiante et le tout solidement maintenu à l'aide de cercles de fer. Pour la construction de ce four, nous avons tenu compte des résultats expérimentaux obtenus avec d'autres fours en service au laboratoire (nous avons utilisé 4 mètres de fil nickel-chrome de 0mm 60 de diamètre ; la résistance totale était d'environ 12 ohms).

Pour les expériences que nous devions entreprendre, il était nécessaire :

- 1° de pouvoir maintenir la température constante pendant 48 heures ;
- 2° de pouvoir mesurer cette température à 1 ou 2° près.

Ceci a nécessité l'utilisation :

- 1° d'un thermomètre régulateur ;
- 2° d'un galvanomètre enregistreur et d'une pince thermo-électrique.

1° Thermomètre régulateur.

Nous avons utilisé le thermomètre à contact réglable « Vertex » ; ce thermomètre possède à l'intérieur du tube capillaire, un fil de contact mobile pouvant se déplacer vers le haut et vers le

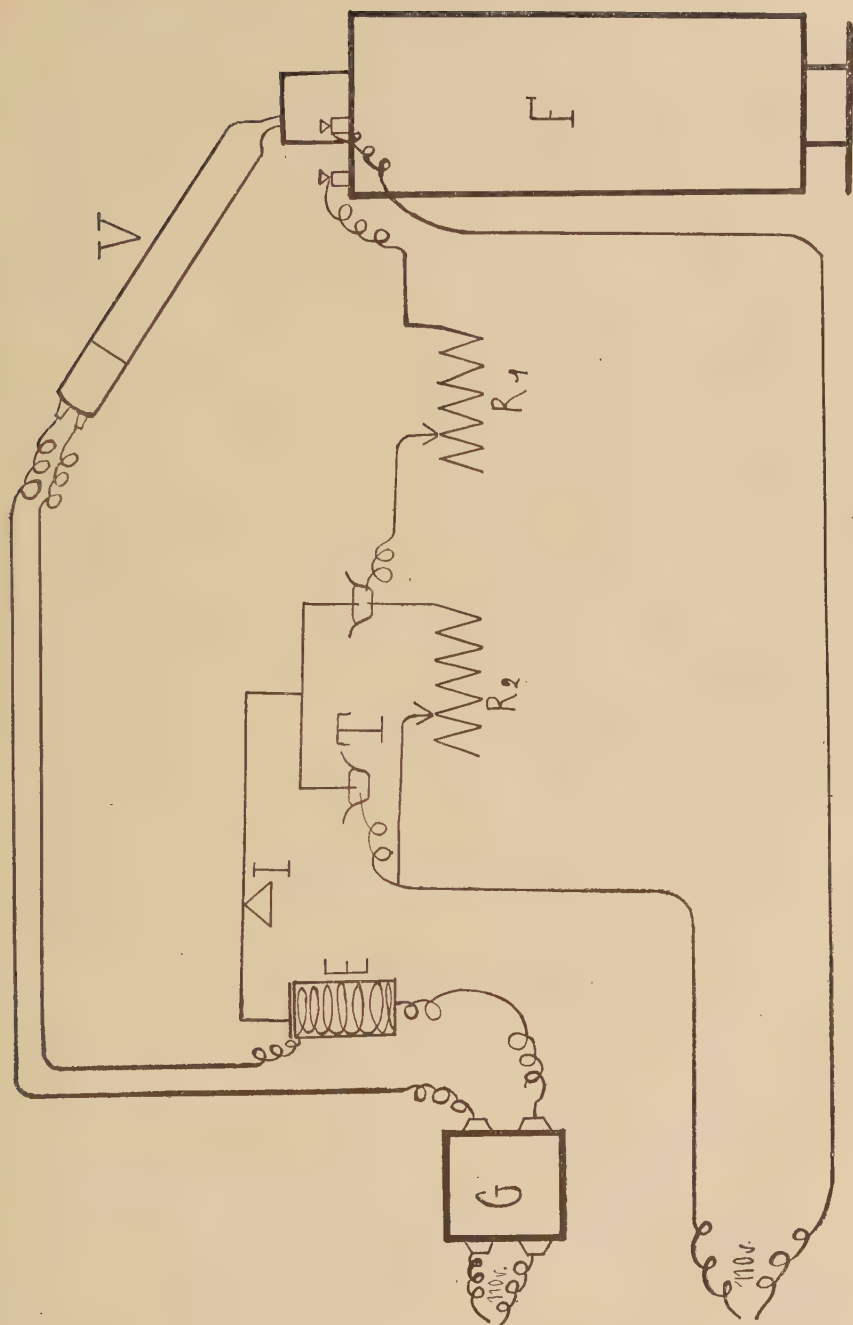


Fig. 2

bas, et coulissant dans une spire reliée à une des bornes, l'autre borne étant en contact permanent avec le mercure. Deux échelles de graduation sont prévues, l'une inférieure, indique la température effective, l'autre, supérieure, sert à la mise au point du fil de contact. Celui-ci est fixé sur un index constitué par un noyau en fer enrobé de verre bleu. A l'aide d'un aimant en fer à cheval, on déplace cet index à volonté pour amener sa partie supérieure au degré exact du réglage désiré. En service, le mercure montant dans l'échelle inférieure, rencontre au degré voulu l'extrémité du fil de contact fermant ainsi le circuit à l'aide d'un contacteur travaillant sous 6 volts dans le cas de l'expérience.

Ce thermomètre que nous avons commandé spécialement, a été fabriqué avec tube plongeant incliné à 45° (afin de permettre une introduction plus facile du tube laboratoire qui était surmonté d'un dispositif permettant l'évacuation de l'hydrogène sélénié).

Le contacteur était constitué essentiellement d'un fléau L (*) reposant sur un couteau I ; à une extrémité de ce fléau, une plaque de fer doux D pouvait être attirée par un électro-aimant E, intercalé dans le circuit du thermomètre Vertex. A l'autre extrémité, le fléau supportait une pièce métallique en U renversé, permettant de fermer le circuit entre deux godets T remplis de mercure. A ces deux godets aboutissait le circuit de chauffage du four.

Le schéma ci-contre dispense d'explications plus détaillées quant au fonctionnement de l'appareil. (Fig. 2).

F : four.

R^1 , R^2 : résistances.

C : contacteur

G : Ferrix.

V : Vertex.

Le montage décrit ci-dessus avait l'avantage d'éviter la rupture complète du courant ; lorsque la température baissait, le courant de chauffage traversait le four et la résistance R^1 , au contraire quand elle dépassait la température fixée, le courant traver-

(*) Un système de contrepoids, non figuré sur le schéma, permettait d'équilibrer convenablement le fléau L.

sait le four, la résistance R^1 et la résistance R^2 et en traversant cette seconde résistance le courant de chauffage diminuait et la température du four s'abaissait..

2° Malgré la sûreté de fonctionnement du thermomètre régulateur utilisé, l'appareil devant fonctionner jour et nuit, nous avons cru nécessaire d'installer un enregistreur de température destiné à nous servir de contrôle et à nous renseigner sur les pannes possibles du secteur : cet enregistreur de température comportait :

- a) un galvanomètre enregistreur ;
- b) une pince thermo-électrique.

a) *Le galvanomètre enregistreur.* marque *Chauvin et Arnoux* se compose d'un galvanomètre ordinaire et d'un système enregistreur. Le diagramme est obtenu par pointés successifs très rapprochés sur une bande de papier millimétré d'une longueur de 10 mètres et se déroulant à raison de 12 millimètres par heure. Cet appareil étant beaucoup trop sensible (mesure de température allant jusqu'à 1600° centigrades) pour les températures à enregistrer ici, 320 à 340°, nous avons dû interposer une résistance, calculée de telle façon que, pour une température de 350°, l'aiguille du galvanomètre se trouve à l'extrémité du cadran gradué.

b) *Pince thermo-électrique.*

Préparation.

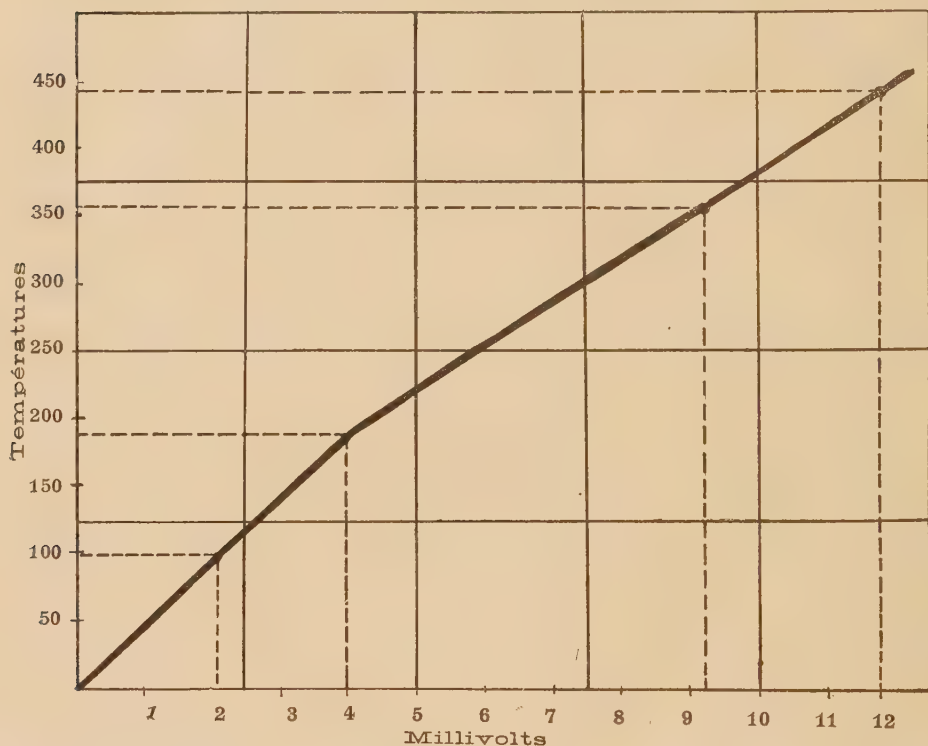
Nous avons utilisé une pince cuivre-constantan que nous avons fabriquée de la façon suivante : un fil de cuivre était soudé au chalumeau à un fil de constantan (*) Les deux fils étaient isolés l'un de l'autre à l'aide de deux tubes minces en verre pyrex et ces deux tubes introduits dans un autre de plus grand diamètre, placé lui-même dans le four. Les extrémités libres des deux fils de la pince étaient soudées (**) à du fil électrique ordinaire qui la mettait en circuit avec le galvanomètre.

(*) Fusion facilitée avec un peu de borax.

(**) Ces soudures, convenablement isolées, étaient maintenues à 0° à l'aide de glace fondante contenue dans un vase Dewar.

Etalonnage.

La pince a été graduée en prenant les précautions habituelles, par détermination des points d'ébullition de l'eau, de l'aniline, du mercure et du soufre. La courbe n° 1 indique les résultats obtenus.



Etalonnage du couple. Sensibilité 24

Courbe N° 1

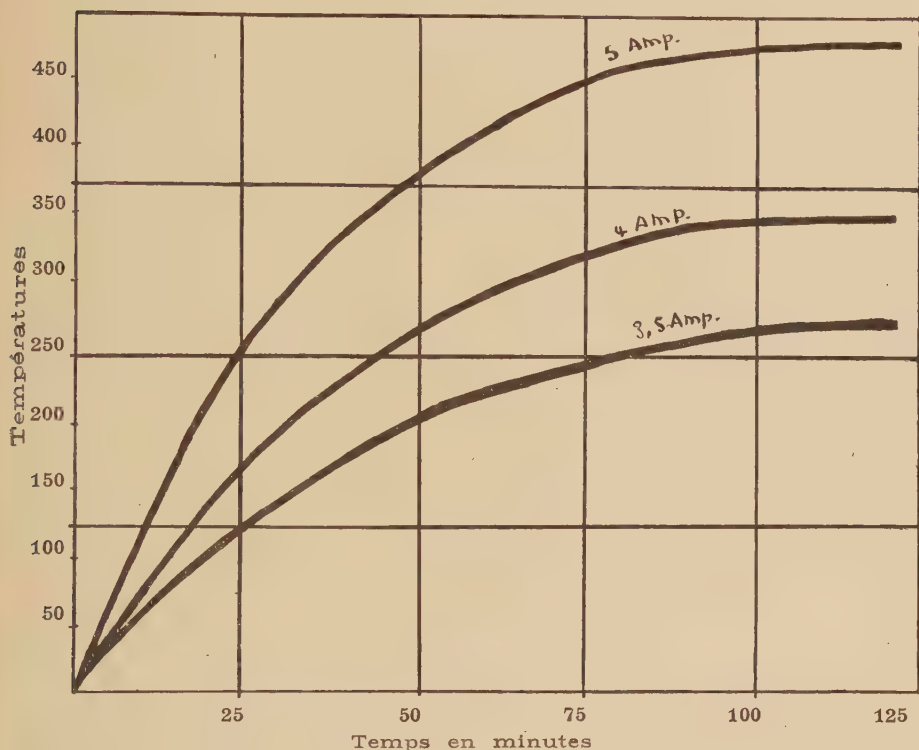
Pour la détermination des points d'ébullition de l'eau et de l'aniline, nous avons opéré suivant la technique habituelle, en introduisant simultanément dans la vapeur, la pince et un thermomètre étalon. Pour la correction de température des points d'ébullition du mercure et du soufre en fonction de la pression, nous avons utilisé les formules généralement admises, c'est-à-dire :

pour le mercure, $\theta = 357^{\circ} + 0,076 (p-760)$; (40)

pour le soufre, $\theta = 444^{\circ}6 + 0,0910 (p-760) - 0,000049 (p-760)^2$; (41).

Caractéristiques du four.

Avant d'utiliser le four pour les expériences, nous avons déterminé sa vitesse d'échauffement à différentes intensités. (courbe N° 2).



Vitesses d'échauffement du four.

Courbe N° 2

Déshydrogénation.

Trois opérations ont été faites en chauffant à des températures différentes pendant le même temps, ceci en vue de mettre en évidence la variation du rendement en fonction de la température ; la première opération a été conduite entre 320 et 340°, la seconde à 320°, la troisième à 340°, pendant 48 heures.

5 grammes de déhydronorcholène sont mélangés intimement

au mortier à 15 grammes de sélénium et introduits dans un tube de verre résistant de 40 centimètres de long ; ce tube, obturé par un bouchon dans lequel on a ménagé une encoche pour permettre le dégagement gazeux, est placé dans le four. On commence à chauffer ; il se dégage bientôt du tube laboratoire, des vapeurs putrides d'hydrogène sélénié rendant l'atmosphère irrespirable. Nous avons été obligé d'imaginer tout un appareillage, une sorte de petite hotte en miniature, recouvrant le tube laboratoire et reliée à la trompe à vide par un tube de verre ; les vapeurs, de cette façon, sont entraînées immédiatement.

L'hydrogène sélénié SeH_2 découvert par Berzélius en 1817 (42), se produit par union directe du sélénium et de l'hydrogène dès 250 °, et ceci d'autant plus rapidement que la température est plus élevée ; gaz incolore, dont l'odeur rappelle celle de l'hydrogène sulfuré tout en étant plus irritante, toxique, irritant très fortement les muqueuses du nez et des bronches et provoquant la toux et les larmes (43). Grâce au dispositif décrit ci-dessus nous avons pu, en grande partie, éliminer les vapeurs toxiques tout en continuant le chauffage.

Au bout de 48 heures, on coupe le courant et on laisse refroidir lentement. Le tube est retiré du four et son contenu est épuisé par du benzène à chaud par petites portions de 10 centimètres cubes. La solution benzénique obtenue, fortement colorée en brun, est filtrée pour la débarrasser du sélénium. On chasse le benzène par distillation de la solution au bain-marie ; le ballon ne contient plus qu'un résidu brun foncé que l'on maintient quelques heures en communication avec une trompe à vide afin de chasser les dernières traces de benzène. Puis le résidu est soumis à une distillation fractionnée sous un vide de 3 à 4 millimètres, ceci d'après la technique employée par Cook et Haslewood :

1° La première fraction obtenue aux environs de 225° ne cristallise pas ; c'est une huile très épaisse, très fortement colorée en brun.

2° La seconde fraction qui passe de 240 à 260° a l'aspect d'une huile beaucoup plus fluide que la précédente et de teinte jaune orangé clair ; par refroidissement elle cristallise.

3° Les queues de distillation des trois opérations que nous avons faites, ont été réunies et chauffées à 240° sous 4 millimètres.

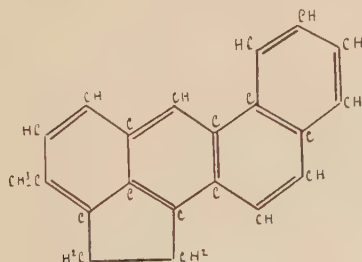
Recristallisations.

Ces trois fractions de distillation ont été recristallisées séparément. On dissout chaque portion dans un mélange benzène-alcool (benzène, 5 centimètres cubes ; alcool, 10 centimètres cubes) en chauffant très légèrement au bain-marie ; par refroidissement, la solution abandonne des aiguilles jaune-brun ; on essore rapidement, on sèche, point de fusion $F=169^{\circ}$. Une seconde recristallisation dans un mélange semblable donne de jolies aiguilles, bien cristallisées, jaune pâle, de point de fusion $F = 176^{\circ}$.

Le rendement total, après recristallisations successives, a été de 25 à 30 %.

Les résultats obtenus pour les trois opérations sont sensiblement les mêmes, ce qui montre que, contrairement à ce que nous pensions la température n'a pas grande importance sur la déshydrogénation par le sélénium et qu'il suffit de chauffer entre $320-340^{\circ}$.

Wieland et Dane attribuent à ce produit de déshydrogénation à point de fusion constant $F = 176^{\circ}$, la structure suivante déduite de celle du déhydronorcholène et le nomment « méthylcholanthrène »

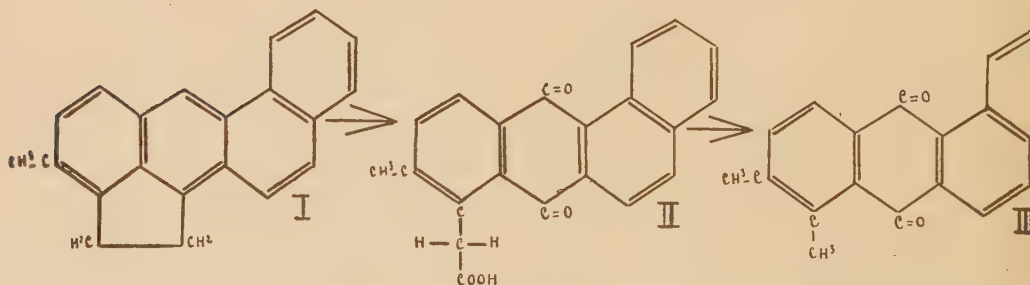


C'est un noyau polycyclique : quatre cycles hexagonaux aromatiques et un cycle pentagonal. Il présente une double structure : structure 1-2 benzanthracénique à quatre noyaux benzéniques, squelette des carbures cancérigènes, structure phénanthréniqne à trois noyaux benzéniques, squelette des stérols, des acides biliaires et des carbures cancérigènes.

II. — STRUCTURE DU MÉTHYLCHOLANTHRÈNE. SES CONFIRMATIONS

1° Cook et Haslewood (44) ont confirmé la structure du méthylcholanthrène en transformant l'hydrocarbure qu'ils avaient obtenu par déshydrogénéation du déhydronorcholène, en une anthraquinone de structure bien établie ; voici comment :

« L'hydrocarbure, oxydé par l'acide chromique, donne une quinone-acide, et cette quinone, décarboxylée se transforme en un composé qui a les propriétés d'un homologue de la 1-2 benzanthraquinone (III). Nous avons trouvé que cette quinone du méthylcholanthrène, décarboxylée, était la 5-6 diméthyl 1-2 benzanthraquinone ; en effet, l'éthérification de l'acide provenant de son oxydation par l'acide permanganique, a donné le méthylantraquinone 1-2-5-6 tétracarboxylate, identique à celui obtenu par oxydation de la 1-2-5-6 dibenzanthraquinone, de structure bien définie. »

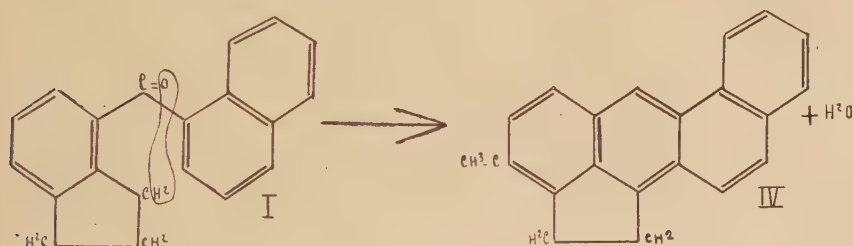


La formule moléculaire du méthylcholanthrène a été reconnue comme étant C²¹H¹⁶ à la suite d'analyses de l'hydrocarbure et de son picrate d'une part, à la lumière de l'étude des stérols et des acides biliaires d'autre part.

En résumé, les réactions par lesquelles l'hydrocarbure est transformé en quinone-acide puis en 5-6 diméthyl 1-2-benzanthraquinone, prouvent que le méthylcholanthrène est correctement représenté par la formule (I) et que son produit d'oxydation est le 6-méthyl benzanthraquinonyl 5-acide acétique (II).

2° Bien que cette transformation de l'hydrocarbure par Cook et Haslewood en une anthraquinone de structure établie ne laisse guère de doutes sur la structure du méthylcholanthrène, la question était malgré tout si importante, que la confirmation par synthèse s'imposait ; Fieser et Seligman (45) ont entrepris cette synthèse « ayant en vue l'expérimentation sur des animaux du seul hydrocarbure à propriétés définies, obtenu jusqu'à présent à partir de substances existant dans le corps animal ».

Il a semblé à ces auteurs, qu'il était possible d'obtenir le méthylcholanthrène par pyrolyse de la cétone (I) suivant :



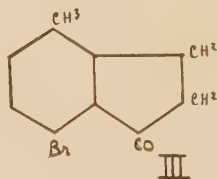
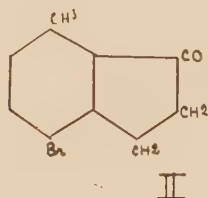
Auparavant, « en vue de déterminer si la condensation d'Elbs pouvait se faire alors que le groupement méthyl habituel était remplacé par le groupement méthylène d'un noyau acyclique », Fieser et Seligman ont soumis à la pyrolyse les cétones suivantes de constitutions semblables :

aryl α — tétraryl — α — naphtyl-cétone ($F = 107^\circ$)
 et aryl α — tétraryl — β — naphtyl-cétone ($F = 183^\circ$).

Ils ont obtenu comme produits de réaction, des hydrocarbures isomères, de poids moléculaire correspondant à la formule C₂₁H₁₆, de points de fusion respectifs $F = 119^\circ$ et 270° .

Les résultats étant en faveur de cette méthode, Fieser et Seligman préparèrent tout d'abord la cétone (I) de la façon suivante (46) :

« Le parabromo-toluène par action du formol et de l'acide chlorhydrique se transforme en un mélange de deux dérivés monochlorométhylés $C^6H^3-(CH^3)^1-(Br)^4-(CH^2Cl)$, de point d'ébullition $E = 106^{\circ},5-108^{\circ},5$. Ce mélange est condensé, avec l'éther malonique sodé, en un mélange d'éthers ; par hydrolyse ces éthers ont donné un mélange d'acides maloniques (acides bromo-2-méthyl-2-benzylmaloniques) ; ces acides ont été décomposés par la chaleur en acides méthyl-bromo-phényl-propioniques et ces derniers cyclisés, par l'intermédiaire de leurs chlorures d'acide, en méthyl-7-bromo-4-hydrindone (II), aiguilles solubles dans un mélange éther-éther de pétrole, point de fusion $F = 95^{\circ}$ et en méthyl-4-bromo-7-hydrindone (III), prismes solubles dans l'éther, point de fusion $F = 154^{\circ}$.



L'hydrogénation de (II) et de (III) par l'acide chlorhydrique et l'amalgame de zinc conduit au même hydrindène, le bromo-4-méthyl-7-hydrindène, point de fusion, $F = 265^{\circ}-270^{\circ}$.

Le magnésien de cet hydrindène, condensé avec le chlorure d' α naphthoyle, donne l'(α naphthoyl)-4-méthyl-7-hydrindène (I), huile très visqueuse ; chauffé à $405-410^{\circ}$, il perd une molécule d'eau et donne l'hydrocarbure (IV), en aiguilles jaune pâle, point de fusion, $F = 178,5-179^{\circ}$, et le picrate correspondant en aiguilles de point de fusion, $F = 182-182^{\circ},5$.

On n'a pas observé de diminution de points de fusion par addition de méthylcholanthrène (point de fusion $F = 176-177^{\circ}$) et de

son picrate (point de fusion $F=178-179^{\circ}$), préparés à partir de l'acide désoxycholique.

Cette synthèse d'un produit de dégradation d'un acide biliaire contenant 21 atomes de carbone et les quatre noyaux benzéniques habituels, confirme la structure établie et ouvre la voie à la préparation d'autres hydrocarbures à activité cancérigène. »

III. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES DU MÉTHYLCHOLANTHRÈNE

Propriétés physiques.

Le méthylcholanthrène que nous avons obtenu après recristallisations dans un mélange à parties égales benzène-alcool, se présente en jolies aiguilles, très bien cristallisées, de couleur jaune d'or, couleur qui n'est pas changée par les recristallisations.

Le point de fusion corrigé, au bloc Maquenne et au bain d'acide sulfurique est de 176° . Les différents auteurs ne sont pas très d'accord sur ce point, et nous avons relevé de légers écarts, en moins comme en plus : Wieland et Dane indiquent $F=174^{\circ}$; Fieser et Seligman $F=176-177^{\circ}$; Cook et Haslewood $F = 176^{\circ},5 - 177^{\circ},5$.

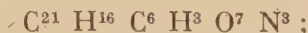
Le méthylcholanthrène est très facilement soluble dans le benzène, beaucoup moins soluble dans l'alcool.

Ses solutions sont fluorescentes. Une solution benzénique du produit a été examinée en lumière de Wood, mais l'appareillage dont nous disposions ne nous a pas permis de mesurer exactement la longueur d'onde de la lumière émise par fluorescence ; nous pouvons cependant affirmer que sa teinte se situe entre les radiations 4.046 et $4.358\text{\AA}$ du mercure, ce qui correspond bien aux résultats obtenus avec d'autres substances cancérogènes étudiées antérieurement et présentant le spectre de fluorescence spécifique à $4.000-4.180-4.400\text{\AA}$. Nous nous réservons d'ailleurs, dans un travail ultérieur, de fixer de façon précise le spectre de fluorescence du produit.

Propriétés chimiques.

La solution de méthylcholanthrène dans le benzène donne, par chauffage avec l'acide picrique, le picrate correspondant, qui

cristallise par refroidissement en aiguilles rouge foncé, de formule :



une molécule de méthylcholanthrène se combine à une molécule d'acide picrique.

Quelques gouttes d'acide sulfurique versées sur une parcelle de méthylcholanthrène, développent une coloration rouge foncé accompagnée d'une fluorescence jaune.

Le méthylcholanthrène est facilement attaqué par l'acide chromique et le permanganate.

Une oxydation du méthylcholanthrène par l'oxyde de plomb à 270-280°, donne des produits cristallisés, plus foncés que le méthylcholanthrène, de point de fusion relativement voisin, et donnant la même composition centésimale à l'analyse :

C : 94,06

H : 6,07 (47)

Le méthylcholanthrène ne réagit pas avec l'anhydride maléique dans le xylène bouillant et ceci pendant une heure de chauffage : sa couleur jaune n'est pas éliminée par ce traitement. (48)

IV. — EXPÉRIMENTATIONS PHYSIOLOGIQUES

La structure moléculaire de méthylcholanthène peut être associée à des propriétés cancérigènes ; ce carbure présente en effet le type de structure particulièrement favorable au développement de ces propriétés : hydrocarbure benzanthracénique avec substitutions en positions 5 et 6. Ces faits, pressentis par Cook, ont été vérifiés par des expériences sur des animaux ; les premières, dues au professeur Kennaway du « Cancer Hospital » se révélèrent hautement concluantes. Ceci, joint à l'intérêt tout particulier que présente le méthylcholanthène par sa synthèse à partir d'un produit naturel du métabolisme animal, éclaire, de façon bien troublante, ce problème capital de la science médicale : le problème du cancer.

Nous nous proposons d'examiner ici les résultats de ces essais de cancérisation par le méthylcholanthène. Nous étudierons successivement les expérimentations faites sur les souris et les rats, par la brillante école de Kennaway et Cook au laboratoire de recherches du « Cancer Hospital » : production d'épithéliomas par simple badigeonnage, production de sarcomes à la suite d'injection sous-cutanée du méthylcholanthène en solution benzénique ou huileuse ; plus récemment, l'action du méthylcholanthène vis-à-vis de l'appareil respiratoire, étude faite par Paul Valade sur des rats ; enfin, nous mentionnerons les résultats obtenus avec le méthylcholanthène que nous avons préparé : ces expérimentations ont été faites par M. le professeur agrégé Velluz du Val de Grâce, M. le professeur Oberling et M. le docteur Guérin de l'Institut du Cancer, M. le docteur Dalimier, chef du Laboratoire de chirurgie de l'hôpital Laënnec, service de M. le professeur agrégé G. Lardenois.

a) Expériences faites au laboratoire de Recherches du « Cancer Hospital » par Cook et ses collaborateurs (49).

1. — Essai de production expérimentale du cancer de la peau par application du méthylcholanthrène dans la région interscapulaire de la souris

Le méthylcholanthrène est appliqué dans le benzène, à une concentration de 0,3 %, deux fois par semaine, à une série de 20 souris : on a obtenu 18 tumeurs, 17 épithéliomes et 1 papillome ; les résultats de l'expérimentation sont consignés dans le diagramme ci-dessous (fig. 3).



Fig. 3. — Méthylcholanthrène — 0,3 % dans le benzène

(Chaque ligne verticale représente la durée de vie de chaque souris à dater du début de l'expérience ; les traits transversaux indiquent la date d'apparition des tumeurs. Les lettres à l'extrémité des lignes indiquent le résultat de l'examen histologique de ces tumeurs :

E : épithéliome.

P : papillome,

K : les souris étaient mortes en fin d'expérience.)

On voit ici que la première tumeur est apparue vers le 65^e jour, après la première application de méthylcholanthrène.

Avec d'autres séries, on a obtenu des résultats plus précoces, une première tumeur est apparue au bout du 31^e jour en employant une solution à 0,3 % de méthylcholanthrène très purifié, dans le benzène.

Voici les résultats obtenus par ces mêmes expérimentateurs en employant :

le méthylcholanthrène ordinaire à 0,3 et 0,06 % dans le benzène ;

le méthylcholanthrène purifié à 0,3 et 0,06 % dans le benzène (voir tableau N^o V).

COMPOSÉS	SOURIS				TUMEURS		
	NOMBRE INITIAL	Survivantes après		La dernière souris est morte le	%	E	P
		6 mois	1 an				
Méthylcholanthrène ordinaire (0,3 % dans benzène)	20	0	0	179 ^e jour	90 %	17	1
Méthylcholanthrène ordinaire (0,06 % dans benzène)	20	60 %	0	268 ^e —	55 %	7	4
Méthylcholanthrène très purifié (0,3 % dans benzène)	10	50 %	0	198 ^e —	70 %	6	1
Méthylcholanthrène très purifié (0,3 % dans benzène)	5	0	0	164 ^e —	100 %	2	3
Méthylcholanthrène très purifié (0,06 % dans benzène)	10	60 %	0	252 ^e —	60 %	5	1

TABLEAU N° V

2. --- Des expériences pour la production de *sarcomes* ont été faites en pratiquant des injections intrapéritonéales du composé dans une solution grasse, le saindoux généralement. Le méthylcholanthrène est dissout dans le saindoux à 37° (2 ou 3 milligrammes par centimètre cube) par chauffage au bain-marie ; des injections de 1 centimètre cube de cette solution sont pratiquées, une fois par semaine, dans l'épigastre droit de 15 rats : les 9 rats qui vécutrent plus de 70 jours présentèrent des tumeurs quand on les sacrifia du 123^e au 193^e jour.

Ci-dessous la figure portant ces résultats (fig. 4) :

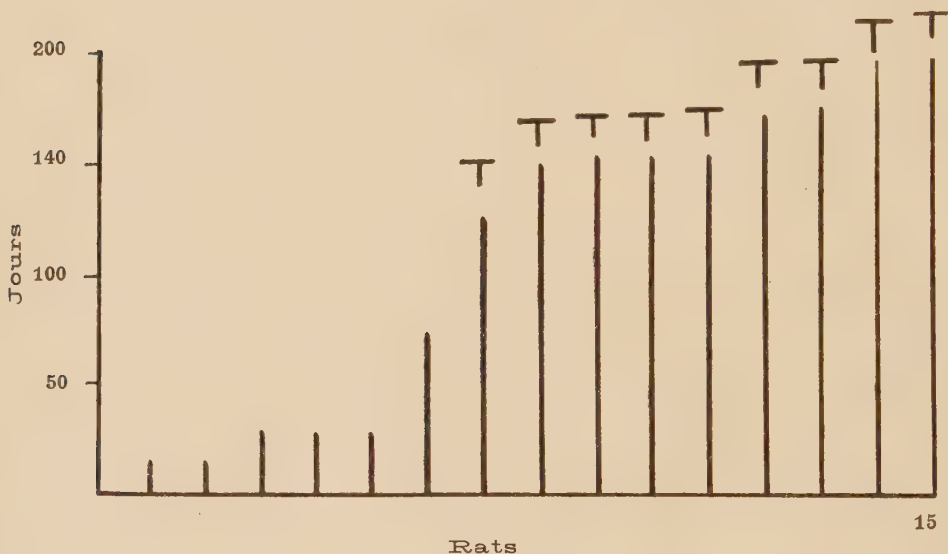


Fig. 4. — Méthylcholanthrène dans le saindoux, 2 à 3 milligr. dans 1 centimètre cube

(Comme précédemment, chaque ligne verticale représente la durée de vie d'un rat à dater du début de l'expérience.

T : tumeur à la mort).

« Le type général des tumeurs est celui formé de cellules en fuseaux ; ces cellules ont une apparence plus fibreuse que celles produites par les autres hydrocarbures, on y voit aussi des nombreuses cellules géantes. Le pouvoir envahissant de ces cellules

semble plus lent malgré leur grande taille ; par contre, elles ont donné des autogreffes plus vigoureuses que dans aucune autre série.

Les seules métastases étaient de simples nodules (30 millimètres de diamètre), trouvés dans le flanc droit de 2 rats.

Il est à remarquer que les différents caractères du néoplasme malin, c'est-à-dire la croissance rapide, la structure cellulaire, le pouvoir d'invasion, la formation de métastases et la croissance des greffes, semblent différemment répartis parmi les tumeurs produites par les principaux carbures cancérigènes, 1-2-5-6 dibenzanthracène, 5-6 cyclo-penteno 1-2 benzanthracène, benzopyrène : les tumeurs dues au méthylcholanthrène offrent une croissance plus rapide et un bon développement des autogreffes, mais sont plus ou moins déficientes quant aux autres caractères. »

b) Expériences de Paul Valade : étude du pouvoir cancérigène du méthylcholanthrène vis-à-vis de l'appareil respiratoire (50)•

Les expériences ont été faites sur des rats.

« 50 rats ont été divisés en lots de 5 et ont été soumis à des injections intra-trachéales de 1/10 de centimètre cube d'une solution huileuse de 1/500 de méthylcholanthrène, les injections étant espacées de 5 jours en 5 jours et les animaux de chaque lot recevant un nombre d'injections égal au numéro du lot. Sur les 50 animaux mis en expérience, 14 ont été atteints de sarcomes pérित्रachéaux ou de rhabdomyosarcomes de l'œsophage, soit un pourcentage de 28 % de cancer provoqué, pourcentage qui aurait certainement été plus élevé, plusieurs animaux étant morts prématurément en cours d'expériences, d'affections intercurrentes. »

Le délai d'apparition des tumeurs a oscillé entre un minimum de 25 jours et un maximum de 5 mois. Les caractères macroscopiques peuvent être rattachés à deux types :

« Dans le premier type, la tumeur s'est développée au pourtour immédiat de la trachée et l'extension de la néoplasie, de volume parfois considérable par rapport à la taille de l'animal, a eu pour

effet, soit de repousser la trachée, en la déviant de son trajet normal, soit d'exercer sur la trachée et même l'œsophage une compression telle que ces deux conduits n'arrivaient plus à exercer leurs fonctions.

Le deuxième type est nettement œsophagien : tantôt la tumeur forme une volumineuse masse se détachant excentriquement par rapport à l'œsophage, tantôt ce dernier est hypertrophié dans toute son étendue.

Histologiquement, on a identifié : 5 sarcomes et 1 fibrosarcome de la région péritrachéale ; 1 sarcome, 1 rhabdomyome et 6 rhabdomyosarcomes de l'œsophage.

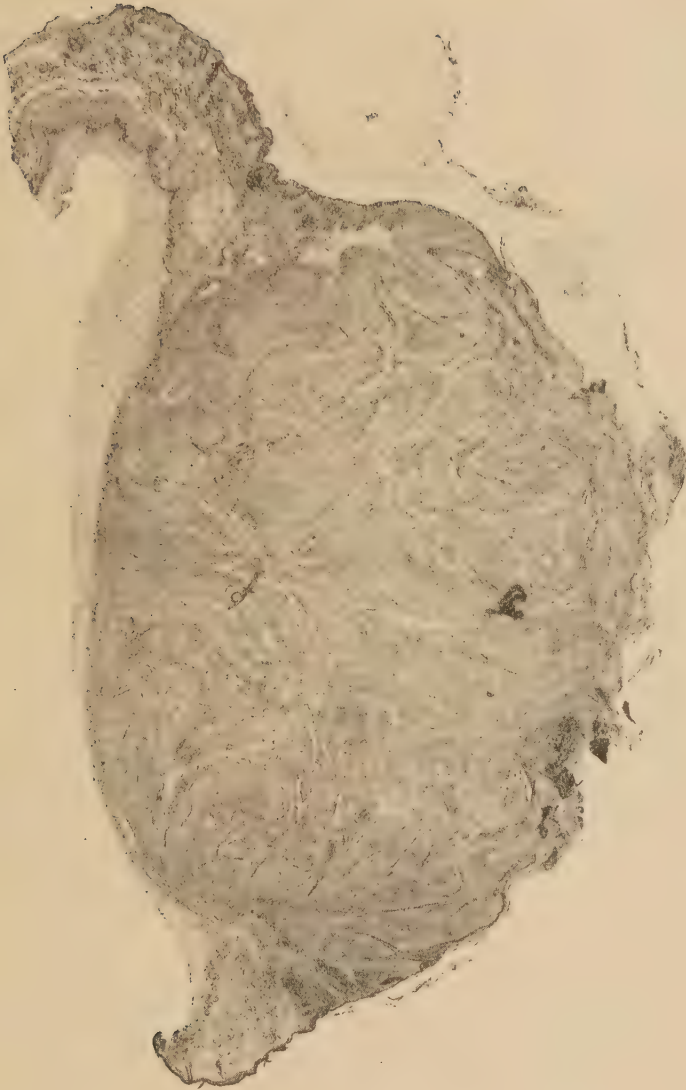
On y remarque un nombre considérable d'éléments géants : les plasmodies qui atteignent le plus souvent des dimensions énormes, affectent des formes les plus variées ; ils contiennent de 2 à 10 noyaux, tantôt entassés les uns sur les autres, tantôt disposés en file. Certaines de ces cellules géantes ont un endoplasma à texture dense et un exoplasma nettement réticulé ; les noyaux présentent aussi une grande variété morphologique.

Enfin sur certaines tumeurs, on a pu suivre la transformation *in situ* des fibres striées de la musculature œsophagienne en éléments indifférenciés se rapprochant du type sarcomateux, on voit les fibres striées s'étirer, puis se morceler ; les noyaux quittent leurs positions marginales pour gagner la partie centrale du sarcoplasma. La mise en évidence des myofibrilles devient de plus en plus difficile au fur et à mesure que la différenciation se poursuit. »

c) Voici maintenant les résultats obtenus avec le méthylcholanthrène que nous avons préparé :

a) M. le professeur Velluz du Val-de-Grâce a bien voulu nous donner quelques détails sur ses expérimentations :

« Le méthylcholanthrène a été utilisé sous forme de solutions benzéniques à 0,5 % et dans certains cas à 0,25 %. Chez la souris mâle, de poids moyen 16 à 18 grammes, on a déposé, deux fois par semaine, une goutte de solution sur la nuque de l'animal, nuque préalablement épilée par arrachement à la pince de quelques touffes de poils. L'alopécie se manifeste dans la région traitée, dès la troi-



« Oliché Institut Cancer Paris »

Fig. 5. — Epithéliome développé chez la souris après 8 semaines d'expérimentation.

sième semaine, suivie d'épaississement cutané et de desquamation ; on note entre la sixième et la neuvième semaine, le développement de papillomes plus ou moins volumineux. Les cancers ont atteint tous les animaux traités, 20 après 3 mois. »

Deux très belles photos d'épithéliomes développés chez la souris au bout de 8 semaines d'expérimentation, nous ont été envoyées par M. le professeur agrégé Velluz (Fig. 5 et 6).

b) M. le professeur Oberling et M. le docteur Guérin, de l'Institut du Cancer ont obtenu des tumeurs sarcomateuses chez des rats, à la suite d'une seule injection sous-cutanée d'une solution huileuse de méthylcholanthrène ; voici le texte de leur réponse :

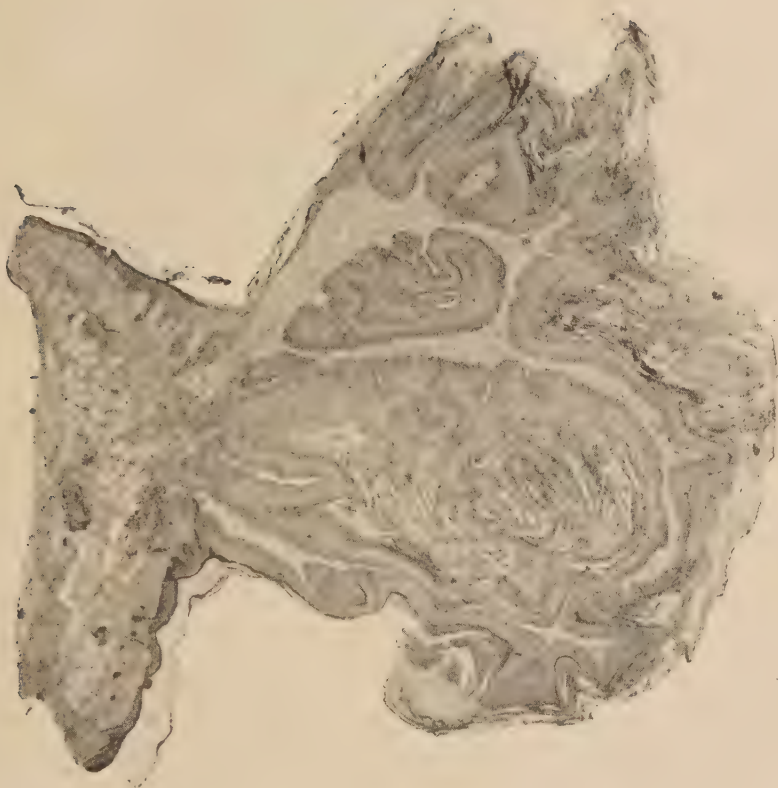
« Avec la solution au 1/1000^e dans l'huile d'olive nous avons fait une seule injection sous-cutanée à 2 séries de 5 rats : l'une recevant 1 centimètre cube, et l'autre 1/10 de centimètre cube par animal. Au 6^e mois d'expérience, les résultants sont les suivants :

dans la première série de 1 centimètre cube : un rat est mort rapidement au 18^e jour d'une myocardite, un est encore négatif et les trois autres ont succombé entre 4 mois et demi et 5 mois, avec des sarcomes sous-cutanés dont un est probablement un myosarcome ;

dans la deuxième série de 1/10 de centimètre cube : deux rats sont morts vers le 5^e mois avec des sarcomes et les trois autres, encore vivants, présentent de petites tumeurs au début.

Ce méthylcholanthrène semble donc très actif puisqu'il provoque la formation de tumeurs dans un pourcentage de cas très élevés, même à la dose de 1/10 de milligramme ; de plus ces tumeurs apparaissent assez vite, car dès la 15^e semaine, nous avons constaté la présence de 5 tumeurs sur 9 rats. »

c) L'injection sous-cutanée d'une solution de méthylcholanthrène à une souris, a provoqué l'apparition assez rapide d'une très belle tumeur sarcomateuse. Nous devons à M. le docteur Dalimier une coupe de cette tumeur, et à M. le professeur Colin,



« Cliché Institut Cancer Paris »

Fig. 6. — Epithéliome développé chez la souris après 8 semaines d'expérimentation.

professeur d'histologie à la Faculté de Médecine de Nancy la photo ci-contre de cette préparation (Fig. 7).

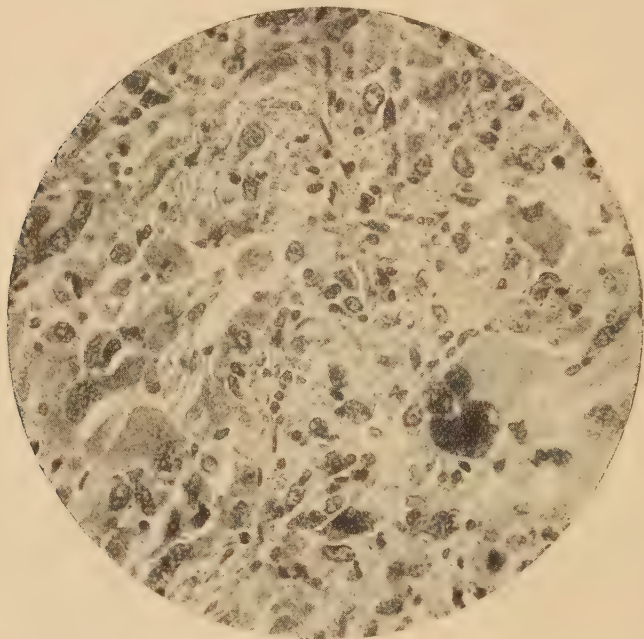


Fig. 7

« Une souris qui a reçu hebdomadairement une goutte sous la peau, d'une solution à 0,3 % du 19 avril à fin juillet, est morte le 2 octobre, porteuse d'une volumineuse tumeur dorsale qui a évolué avec une extraordinaire rapidité dans les trois dernières semaines de sa vie. »

L'examen histologique de la tumeur a été fait par M. le professeur Roger Leroux de l'Institut du Cancer :

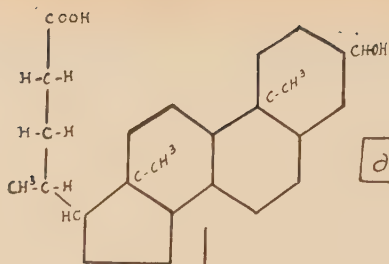
« Tumeur maligne, sarcomateuse, avec de très nombreuses monstruosités et plasmodes du type myo-sarcome. »

V. — CONCLUSION

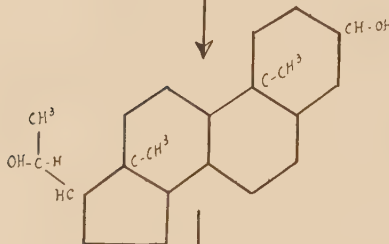
A la fin de cette étude, nous sommes arrivés à cette conclusion : l'acide désoxycholique produit naturel du métabolisme animal peut être transformé, par cyclisation de sa chaîne latérale et déshydrogénation de ses cycles, en un agent cancérigène actif, le méthylcholanthrène.

Cette transformation, nous l'avons effectuée au laboratoire, mais elle est en partie réalisable *in vivo*. L'organisme est capable de déshydrogéner les noyaux hydro-aromatiques et l'existence des hormones sexuelles en fournit la preuve. On connaît à présent, de façon à peu près correcte, la constitution de la folliculine (51), du prégnandiol, du corps de Marian, hormones retirées de l'urine des femmes enceintes ; des équiline (52), équiléline, hippuline des urines de juments gravides. Tous ces composés sont des hydrocarbures polycycliques, de structure phénanthrénique, s'apparentant de toute évidence aux stérols et aux acides biliaires et ceci par l'intermédiaire de l'acide lithocholique, acide mono-alcool, premier terme de réduction de l'acide désoxycholique. (voir tableau n° IV) (53). Voici donc réalisée, avec l'obtention du méthylcholanthrène et la consécration de ses propriétés cancérigènes, cette troublante filiation entre stérols, acides biliaires, hormones sexuelles et molécules cancérigènes.

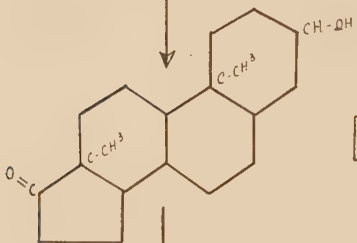
Bien avant qu'on eût préparé le méthylcholanthrène, plusieurs auteurs avaient déjà souligné, outre l'analogie de structure trouvée entre les hormones sexuelles et les carbures cancérigènes, une communauté d'activité physiologique ; en effet, (54) « des carbures cancérigènes, parmi les plus actifs, 1-2 benzopyrène et 5-6 cyclopenteno 1-2 benzanthracène se sont montrés œstrogènes c'est-à-dire qu'ils provoquent, chez le rat, le phénomène du rut ou



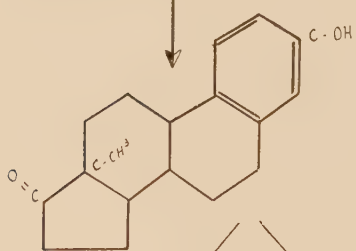
acide lithocholique



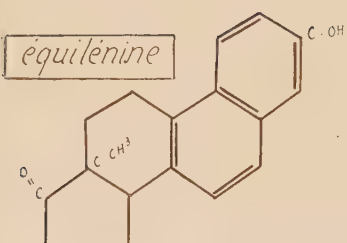
prégnandiol



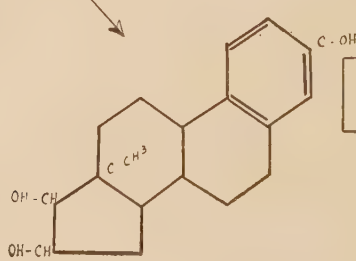
hormone mâle



folliculine



équilenine



corps de Marian

TABLEAU N° IV

de l'œstrus, phénomène étudié en détail depuis des années et qui est déclenché à volonté par injection de folliculine, hormone naturelle de l'œuf. Inversement, de même qu'il existe des carbures cancérogènes qui sont œstrogènes, les expériences de Lacassagne à l'Institut du Radium de Paris, ont montré que l'injection de folliculine, à des souris de souches sélectionnées, avait comme corollaire l'augmentation du pourcentage du cancer ». M. le professeur Roger Leroux, sous-directeur de l'Institut du cancer, souligne la ressemblance qui existe entre le phénomène de l'œstrus et le cancer : « l'œstrus est essentiellement caractérisé par la mise en œuvre de l'activité de la sphère génitale, le cancer procède d'une prolifération cellulaire qui devient, par la suite, anormale dans son rythme : le phénomène physiologique et la maladie ont donc une similitude remarquable dans leur modalité de début. »

Le méthylcholanthrène possède-t-il du point de vue physiologique, la propriété d'être œstrogène ? A notre connaissance, aucune recherche n'ayant été faite en ce sens, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'essayer de le vérifier.

Les animaux choisis pour cette expérience étaient des souris femelles, vierges, d'un poids moyen de 15 à 17 grammes.

Le méthylcholanthrène était utilisé en solution à 1/1000 dans l'huile d'olive.

La première souris reçut, en injection intrapéritonéale, $\frac{1}{2}$ centimètre cube de la solution ; sacrifiée au sixième jour, les organes génitaux, ovaires, trompes et utérus étaient normaux ; par contre le foie et les reins apparaissaient un peu volumineux et congestionnés. L'huile injectée avait complètement disparu.

Nous avons recommencé l'expérience, en utilisant une solution trois fois plus concentrée que la précédente (solution à 3/1000 de méthylcholanthrène dans l'huile d'olive). La souris ayant reçu en injection intrapéritonéale $\frac{1}{2}$ centimètre cube de la solution, mourut rapidement au cinquième jour : l'autopsie révéla la présence d'une partie de l'huile non transformée, des organes génitaux normaux, une forte hypertrophie des organes d'élimination, rein gros et congestionné, foie présentant en outre, des plaques de dégé-

nérescence grasseuse comme dans le cas d'intoxication phosphorée ou arsénicale.

Le méthylcholanthrène, à la dose injectée, est donc toxique pour la souris, tout en ne semblant pas posséder d'action spécifique sur les organes génitaux ; dans des conditions analogues, la folliculine a en effet une action assez rapide sur ces organes (4 à 5 jours), mais il est vrai que cette substance est injectée en solution aqueuse.

Il n'en subsiste pas moins qu'il n'y a qu'un pas entre les formules de constitution des hormones et des carbures cancérigènes, de l'acide lithocholique et de l'acide désoxycholique.

Le problème de plus en plus se limite et se situe tout en restant aussi impénétrable.

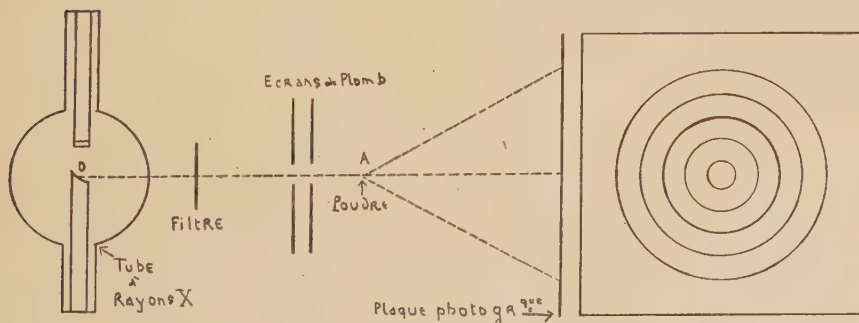
SPECTRE DE RAYONS X

Dans le but de fixer la structure du méthylcholanthrène et de la comparer par la suite aux structures révélées par d'autres composés cancérigènes, nous avons pensé à établir son spectre de rayons X.

La technique que nous avons employée est la « méthode des poudres » de Hull-Debye-Scherrer : si l'on réduit un cristal en poudre fine par écrasement, l'arrangement des cristaux devient tout à fait désordonné. Les différentes familles de plans réticulaires possèdent toutes les orientations possibles et, éclairées par un faisceau de rayons X monochromatiques donnent lieu, lorsqu'ils présentent une inclinaison favorable θ , à la réflexion sélective suivant la formule de Bragg :

$$n \lambda = 2 d \sin \theta$$

Voici le schéma du dispositif utilisé :

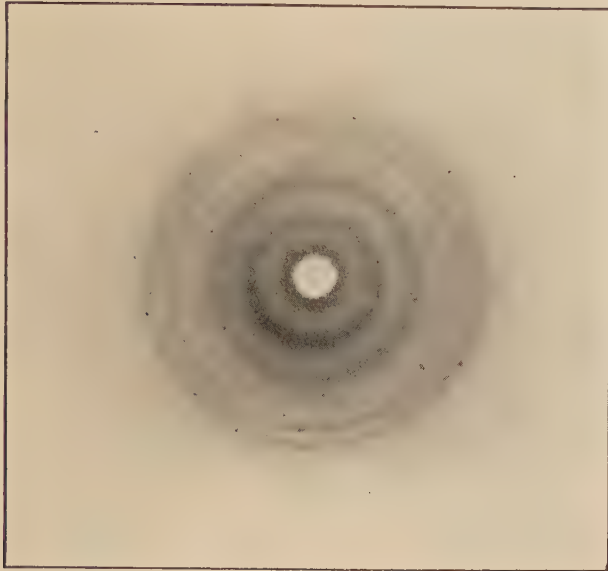


Le méthylcholanthrène est placé dans un tube très mince à parois de cuivre que l'on expose à un faisceau circulaire et étroit de rayons X monochromatiques (on utilise la raie $K\alpha$ du cuivre : $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) ; un film photographique placé normalement à ce faisceau, au-delà de la poudre cristalline, montre une série d'anneaux concentriques et fins, représentant les sections planes des nappes coniques des rayons diffractés. L'interstice d des plans qui ont produit l'anneau de diamètre $2 r$ est :

$$d = \frac{n \lambda}{2 \sin \theta} \quad \text{avec} \quad \operatorname{tg} 2 \theta = \frac{r}{D}$$

si D est la distance de la plaque à la poudre cristalline.

SPECTRE



Les principales distances réticulaires calculées en angströms sont les suivantes :

8,57 Å	intensité forte
6,44 Å	intensité très faible
5,573 Å	intensité forte
4,404 Å	intensité très faible
3,862 Å	intensité faible
3,525 Å	intensité forte
3,322 Å	intensité très faible

Toutes ces distances sont calculées comme étant des premiers ordres.

Le système cristallin étudié étant très complexe, il n'est guère possible d'obtenir d'autres informations que la mesure, donnée par les diagrammes d'anneaux, des différents interstices cristallins.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) J. W. COOK, C. L. HEWETT, I. HIEGER. *Journal of the chemical Society*, 1933 p. 395.
- (2) E. L. KENNAWAY. *Journal of Path .Bact.*, 1924, t. XXVII, p. 233.
- (3) I. HIEGER. *Biochemical Journal*, 1930, t. XXIV, p. 505.
- (4) G. BLANG. *Thèse pharmacie*. Nancy, 1936.
- (5) J. W. COOK, C. L. HEWETT, I. HIEGER. *Journal of the chemical Society*, 1933, p. 395.
- (6) J. W. COOK. *Proceedings of the Royal Society of London*, 1933, t. B. CXIII, p. 271.
- (7) LITTRÉ et GILBERT. *Dictionnaire de médecine*. J. B. Baillière et fils .Ed. 1908, p. 463.
- (8) P. LEBEAU et C. COURTOIS. *Pharmacie chimique*. Masson et Cie. Ed. 1929, p. 546 et suivantes.
- (9) P. CRISTOL. *Précis de chimie Bio. médicale*. Masson et Cie. Ed. 1935, p. 282-283.
- (10) Heilborn. *Dictionnary of organic compounds*. Eyre et Spottiswoode Ed. Vol. I. p. 338.
- (11) WURTZ. *Dictionnaire de chimie pure et appliquée*, 1874, t. I, 1^{re} partie, p. 600.
- (12) F. BEILSTEIN. III^e éd., 1893, t. I, p. 781.
- (13) F. BEILSTEIN. III^e éd., 1893, t. I, p. 781.
- (14) Heilborn. *Dictionnary of organic compounds*. Eyre et Spottiswoode, Ed. vol. I. p. 338.
- (15) F. BEILSTEIN, III^e éd. 1893, t. I, p. 781.
- (16) Heilborn. *Dictionnary of organic compounds*. Eyre et Spottiswoode, Ed. vol. I. p. 387.
- (17) WURTZ. *Dictionnaire de chimie pure et appliquée*, 2^e suppl., 1^{re} partie, p. 695.
- (18) F. BOEDECKER et H. VOLK. *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1922, t. LV, p. 2.302.
- (19) F. BOEDECKER. *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1920, t. LIII, p. 1.852.
- (20) F. BOEDECKER et H. VOLK. *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1921, t. LIV, p. 2.489.
- (21) Heilborn. *Dictionnary of organic compounds*. Eyre et Spottiswoode, Ed. Vol. I. p. 387.
- (22) C. Th. MORNER. *Chemisches Zentralblatt*, 1924, t. II, p. 2.528.
- (23) H. WIELAND et E. DANE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1925, t. CL, p. 273.
- (24) J. W. COOK. *Proceedings of the Royal Society of London*, 1933, t. B. CXIII, p. 271

- (25) H. WIELAND et E. DANE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1933, t. CCXIX, p. 240.
- (26) L. F. FIESER et M. S. NEWMANN. *Journal American chemical Society*, 1935, t. LVII, p. 961.
- (27) P. CARRÉ. *Bulletin société chimique de France*, 1935, fasc. 11, p. 530.
- (28) H. WIELAND et H. SORGE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1916, t. XCVII p. 18.
- (29) F. PREGL. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1910, t. LXV, p. 159.
- (30) H. WIELAND et H. SORGE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1916, t. XCVII, p. 18.
- (31) H. WIELAND et SCHLICHTING. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1925, t. CL, p. 273.
- (32) J. W. COOK et G. A. D. HASLEWOOD. *Journal of the chemical Society*, 1934, 1, p. 428.
- (33) H. WIELAND et E. DANE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1932, t. CCX, p. 281.
- (34) H. WIELAND et H. WIEDERSHEIM. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1930, t. CLXXXVI, p. 229.
- (35) H. WIELAND et E. DANE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1933, t. CCXIX, p. 240.
- (36) H. WIELAND et SCHLICHTING. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1925, t. CL, p. 273.
- (37) J. W. COOK et G. A. D. HASLEWOOD. *Journal of the chemical Society*, 1934, 1, p. 428.
- (38) H. WIELAND et E. DANE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1933, t. CCXIX, p. 240.
- (39) J. W. COOK et G. A. D. HASLEWOOD. *Journal of the chemical Society*, 1934, 1, p. 428.
- (40) PASCAL. *Traité de chimie minérale*. Masson et C^{ie}, Ed. 1933, t. VIII, p. 815.
- (41) PASCAL. *Traité de chimie minérale*. Masson et C^{ie}. Ed. 1933, t. II, p. 49.
- (42) MOISSAN. *Traité de chimie minérale*. Masson et C^{ie}. Ed. 1904, t. I, p. 466.
- (43) WURTZ. *Dictionnaire de chimie pure et appliquée*. t. I, 2^e partie, p. 1461.
- (44) J. W. COOK et G. A. D. HASLEWOOD. *Journal of the chemical Society*, 1934, 1, p. 428.
- (45) L. F. FIESER et A. SELIGMAN. *Journal of the American chemical Society*, 1935, t. LVII, p. 942.
- (46) P. CARRÉ. *Bulletin de la société chimique de France*, 1935, fasc. 11, p. 530.
- (47) A. WIELAND et E. DANE. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1933, t. CCXIX, p. 240.
- (48) J. W. COOK et G. A. D. HASLEWOOD. *Journal of the chemical Society*, 1934, 1, p. 428.

- (49) J. W. COOK, G. BARRY, G. A. D. HASLEWOOD, C. L. HEWETT, I. HIEGER et E. L. KENNAWAY, F. R. S. *Laboratoire de recherche du Cancer. Hospital. communication* 22, 12, 1934.
- (50) Paul VALADE. *C. R. A. Sc.*, 1937, t. CCIV, p. 1281.
- (51) L. RUZICKA *Bulletin des anciens élèves de l'Ecole de Chimie de Mulhouse*, 1935, p. 57.
- (52) A. GIRARD, G. SAUDULESCO, A. FRIDENSON, Ir. J. J. RUTGERS. *C. R. A. Sc.*, 1932, t. CXCIV, p. 909.
- A. GIRARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON, Ir. J. J. RUTGERS. *C. R. A. Sc.*, 1932, t. CXCIV, p. 1020.
- A. GIRARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON, Ir. J. J. RUTGERS. *C. R. A. Sc.*, 1932, t. CXCV, p. 981.
- A. GIRARD et WAN WEN TCHUNG. *C. R. A. Sc.*, 1933, t. CXCVI, p. 137.
- (53) P. CRISTOL. *Précis de chimie Bio-médicale*. Masson et C^{ie}. Ed. 1935, p. 282-283.
- (54) R. LEROUX. *Chimie et industrie*, 1936, t. XXXV, p. 520 à 524.
-

VU ET APPROUVÉ

Nancy, le 16 décembre 1937.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie :

P. PASTUREAU.

VU et PERMIS d'IMPRIMER

Nancy, le 16 décembre 1937.

Le Recteur de l'Académie :

L. BRUNTZ,

Président du Conseil de l'Université.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	9
PLAN	15
Tableau n° I	16

PREMIÈRE PARTIE

BILE ET ACIDES BILIAIRES

I. — <i>Bile</i>	17
II. — <i>Acides biliaires</i>	18
Origine	18
Tableau n° II	19
A. Acides glycocholique et taurocholique	21
B. Acide cholique	23
C. Acide désoxycholique	28

DEUXIÈME PARTIE

MÊTHYCHOLANTHRÈNE

I. — <i>Synthèses</i>	35
A. A partir de l'acide cholique	35
B. A partir de l'acide désoxycholique	36
Tableau n° III	37
a) OXYDATION	38
partie bibliographique	38
partie expérimentale	39
Acide 3-12-dicétocholanique	43

b) RÉDUCTION	43
partie bibliographique	44
partie expérimentale	45
Acide 12-cétocholanique	47
c) DÉSHYDRATATION ET DÉCARBOXYLATION	48
partie bibliographique	49
partie expérimentale	49
Appareil, fig. 1	50
Déhydronorcholène	52
d) DÉSHYDROGÉNATION	52
partie bibliographique	53
partie expérimentale	54
Four, fig. 2	55
thermomètre régulateur	56
galvanomètre enregistreur	57
pince thermo-électrique	57
étalonnage. Courbe n° 1	58
caractéristiques du four. Courbe n° 2	59
Méthylcholanthrène	61
II. — <i>Structure. — Ses confirmations</i>	62
III. — <i>Propriétés physiques et chimiques</i>	66
IV. — <i>Expérimentations physiologiques</i>	68
Expériences de Cook.	
Fig. 3	69
Tableau n° V	71
« Clichés Institut Cancer Paris ».	
Fig. 4	72
Fig. 5	75
Fig. 6	77
Coupe Dalimier-Colin. Fig. 7	78
V. — CONCLUSION	79
Tableau n° VI	80
Spectre de rayons X	83

IMPRIM. JACQUES ET DEMONTROND. BESANÇON.

ERRATA

Page 26, cinquième paragraphe, *lire* :

L'acide cholique et ses sels solubles sont dextrogyres

$$(\alpha)_D^{20} = + 37^{\circ} (14).$$

Page 84, troisième et quatrième lignes, *lire* :

(on utilise la raie $K\alpha$ du cuivre : = 1,54 Å) ;

Table des matières, paragraphe 4, *lire* :

IV. — <i>Expérimentations physiologiques</i>	68
Expériences de Cook.	
Fig. 3	69
Tableau n° V	71
Fig. 4	72
« Clichés Institut Cancer Paris ».	
Fig. 5	75
Fig. 6	77
Coupe Dalimier-Colin. Fig. 7	78
